BAND 28, HEFT 4 FEBRUAR 1957

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich
M. Klinkowski Aschersleben
H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 26 Abbildungen

1957
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 28 **Heft 4** *S. 353—464 Berlin 1957*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
4 MAR 1957

INHALT

Abhandlungen

BUTIN, H., Untersuchungen über Resistenz und Krankheitsanfälligkeit der Pappel gegenüber *Dothichiza populea* Sacc. et Br. Mit 3 Abb. 353

CORBAZ, R., Recherches sur le genre *Didymella* Sacc. Avec 10 figures 375

CANOVA, A., Ricerche intorno ad una virosi del pomodoro (mal della striscia). II. Presenza del virus sui semi e nel terreno 415

ZOGG, H., Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten. I. Wirkung der Vorkultur auf verschiedene Fußkrankheitserreger bei Getreide 423

COSTA, A. S., FRANCO DO AMARAL, J., VIEGAS, A. P., SILVA, D. M., TEIXEIRA, C. G., and PINHEIRO, E. D., Bacterial halo blight of coffee in Brazil. With 3 figures 427

BAUMEISTER, GABRIELE, Über Nebenfruchtformen bei *Tryblidiella hysterina* (Duf.) Shear. Mit 3 Abb. 445

KÖHLER, E., Über die Beziehung zwischen Viruskonzentration von Impflösungen und Infektionshäufigkeit. II. Das übereinstimmende Verhalten verschiedener Virusarten. Mit 6 Abb. 451

Kurze Mitteilung

SCHMELZER, K., Die Passage durch *Stellaria media* in ihrer Bedeutung für die mechanische Übertragung von Viren an Nelken. Mit 1 Abb. 457

Besprechungen 461

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24,— DM **Einzelpreis 26,40 DM**

Aus der Biologischen Bundesanstalt, Institut für forstliche Mykologie und Holzschutz, Hann. Münden

Untersuchungen über Resistenz und Krankheitsanfälligkeit der Pappel gegenüber *Dothichiza populea* Sacc. et Br.[1])

Von

H. Butin

Mit 3 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Material und Methodik. 2. Künstliche Infektionsversuche. a) Die Abhängigkeit des Infektionserfolges vom Wassergehalt der Pappel; b) Infektionsversuche bei verschiedenen Temperaturen; c) Infektionsversuche bei gleichzeitiger Veränderung von Temperatur und Feuchtigkeit. 3. Mikroskopische Befunde der Infektionsversuche. a) Die Ausbreitung des Pilzes im Rindengewebe; b) Die pathogene Wirkung von Stoffwechselprodukten des Pilzes; c) Mechanische Abwehrreaktionen. 4. Diskussion. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Über *Dothichiza populea*, den Urheber des Rindenbrandes der Pappel, sind seit den ersten Beobachtungen ihres parasitischen Auftretens (Delacroix 1903) zahlreiche Mitteilungen und Untersuchungsberichte erschienen, die sich vor allem mit der Beschreibung des Krankheitsbildes, der Sortenanfälligkeit und der Biologie des Pilzes befassen. Über die Bedingungen für das Auftreten einer Rindenbranderkrankung finden sich in der Literatur jedoch nur kurze Hinweise mit z. T. unterschiedlichen Vorstellungen; so wird als Voraussetzung einer Erkrankung von Delacroix (1903), dann von Hedgcock und Hunt (1916), Richter (1933), Klebahn (1937), van Vloten (1938), Schmidle (1953) und Müller (1953) eine „Schwächung" der Pappel angegeben, die durch Trocknis, stauende Nässe und schlechte Standorte bedingt sein soll. Beobachtungen über Frostschäden

[1]) Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. Zycha durchgeführt.

im Mai mit anschließendem starken *Dothichiza*-Befall machten GOIDANICH (1940) und TER PELKWIJK und BRINK (1946); *Dothichiza*-Schäden im Frühjahr 1952 bringt RASCHKE (1952) mit Frosteinwirkungen im September des vorhergehenden Jahres zusammen. — Aus den Beobachtungen geht hervor, daß *Dothichiza populea* als Schwächeparasit aufzufassen ist, der für sein Auftreten eine besondere Krankheitsdisposition der Pappel voraussetzt. Gegenteiliges berichtet nur ROL (1951), der *Dothichiza* als primären Feind gutwüchsiger und ungeschwächter Pappelpflanzen beschreibt. Bei den in den USA gemachten Beobachtungen soll es sich jedoch um eine besondere physiologische Rasse handeln, die im Vergleich zu den in Europa vorkommenden Formen eine größere Virulenz besitzt. Da bisher noch keine Vergleichsuntersuchungen gemacht worden sind, bleibt diese Angabe vorläufig noch fraglich.

Neben Mitteilungen über das Auftreten eines *Dothichiza*-Schadens und seinem mutmaßlichen Zusammenhang mit meteorologischen und klimatischen Besonderheiten finden sich über experimentelle Untersuchungen nur sehr spärliche Angaben. Die in der Regel durchgeführten Freilandversuche erschweren naturgemäß eine Kontrolle der Umweltfaktoren, und Laboratoriumsversuche stellen größere Anforderungen an die Methodik. Ohne Laboratoriumsversuche ist die Deutung verschiedener Freilandversuche und -beobachtungen jedoch nicht möglich; so besteht Unklarheit darüber, ob die in der Vegetationsruhe erhöhte *Dothichiza*-Anfälligkeit (SCHMIDLE, 1953; SCHÖNHAR, 1953 und 1955; v. VLOTEN, 1938) in der niederen Temperatur, im veränderten Wassergehalt der Pflanze oder sogar in endogenen Faktoren der Pflanze zu suchen ist. Von GÄUMANN (1954) wird ganz allgemein die jahreszeitlich verschiedene Anfälligkeit der Holzgewächse auf Wassergehaltsschwankungen zurückgeführt. Andererseits sind genügend Beispiele aus der Pflanzenpathologie bekannt, bei welchen der Temperaturfaktor einen Krankheitsvorgang wesentlich beeinflußt. Beim Rindenbrand der Pappel erschien es uns erfolgversprechend, den Einfluß beider Faktoren in Laboratoriumsversuchen zu überprüfen.

Wie in einer früheren Arbeit gezeigt worden ist, haben die mechanischen Abwehrreaktionen der Pappel gegenüber dem Eindringen von *Cytospora chrysosperma* und auf den Vorgang einer Erkrankung einen erheblichen Einfluß. Wurde der Wassergehalt der Pappel so weit gesenkt, daß die Wundperidermbildung nicht mehr zeitig genug ausgeführt werden konnte, so vermochten die Pilzhyphen ungehindert in das Innere des Rindengewebes vorzudringen. In gleicher Weise könnte nun auch der Ausgang einer *Dothichiza*-Infektion erklärt werden, wenn für den Erreger gleiche mechanische Resistenzfaktoren eine Rolle spielen sollten. Die Anfälligkeit der Pappel gegen *Dothichiza* würde damit ebenfalls von der Reaktionsfähigkeit, und in Verknüpfung damit, vom „Wasserzustand" der Pappelpflanze abhängen. Auf die Einflußnahme des Wasserfaktors haben bereits MÜLLER (1953), SCHMIDLE (1953) und ZYCHA (1955) hingewiesen.

Den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit bilden Untersuchungen über den Einfluß der Wassersättigung bzw. eines Wasserverlustes auf die Infektions- und Krankheitsbereitschaft der Pappel gegenüber *Dothichiza populea*. Anschließend soll in gleicher Weise durch Infektionsversuche an kürzeren Pappelabschnitten der Einfluß des Temperaturfaktors geprüft werden. Bei diesen Versuchen galt es festzustellen, auf welche Weise die Pappel unter den jeweiligen Bedingungen reagiert und welche Beziehungen sich hierbei zu dem Erreger selbst ergeben. Auf mikroskopischem Wege sollen vor allem die Ausbreitung des Pilzes und seine Fähigkeit, die Wirtspflanzen erkranken zu lassen, untersucht werden.

Bei den Infektionsversuchen wurde *Cytospora chrysosperma* als Vergleichspilz mit hinzugezogen; denn aus einer Gegenüberstellung der verschiedenen parasitischen Fähigkeiten beider Pilze glaubten wir, die Eigentümlichkeit ihrer spezifischen Lebensbedingungen und die Pathogenität von *Dothichiza* besser herausheben zu können.

1. Material und Methodik

Zur Durchführung der Infektionsversuche wurde eine Methode angewendet, die sich schon bei früheren Laboratoriumsversuchen mit *Cytospora chrysosperma* bewährt hatte (Butin, 1955). Als Material dienten Stamm- und Zweigabschnitte vier- bis fünfjähriger Pflanzen von *Populus deltoides* aus dem Kamp des Forstamtes Kattenbühl, Hann. Münden, die in Abschnitte von 10 bis 12 cm zerlegt und an beiden Hirnflächen mit Baumwachs abgedichtet wurden. Der Durchmesser der Abschnitte betrug entweder 1 cm oder 1,6 cm. Pappelabschnitte dieser Größe erwiesen sich als lebenskräftig und zu starker Kallusbildung befähigt, was einen befriedigten Vergleich mit Reaktionsabläufen an unzerteilten Pappelstangen durchaus möglich erscheinen ließ. Die praktische Brauchbarkeit dieses Verfahrens geht aus der Stecklingsgewinnung zu Vermehrungszwecken hervor, wo auch kürzere Pappelabschnitte eine längere Zeitspanne ohne Schaden überdauern. Eine Abnahme der Reaktionsfähigkeit von Pappelabschnitten zeigte sich in dampfgesättigter Luft und bei Temperaturen über 18° C erst nach drei Wochen; eine Veränderung durch hyperhydrische Bildungen erfuhr dann vor allem die Rinde. In solchen Fällen zeigen sich die Grenzen eines Experiments, bei dem physiologische Reaktionen an isolierten Pappelabschnitten nicht mehr „normal" ablaufen können und damit ihren Anspruch als gültige, dem Freiland annähernd entsprechende Vergleichswerte verlieren. Unsere Versuche dehnten sich jedoch unter diesen Bedingungen nie länger als zwei bis drei Wochen aus. Bei Einwirkung niederer Temperaturen konnte die Lebensdauer von Pappelabschnitten ohne Änderung ihres Reaktionsvermögens über mehrere Monate hin erhalten werden.

Der Vorteil unserer Methodik liegt in der Kontrolle des Feuchtigkeitsgehaltes der Pappelabschnitte und in der Aufstellung des Materials in Räumen mit konstanter Temperatur. Der Wasserverlust der Zweigabschnitte

wurde gravimetrisch bestimmt und nach dem Darren bei 105 ° C auf den Gesamtwassergehalt bezogen. Die Pappelzweige selbst wurden in 1-Liter-„Weckgläsern" aufbewahrt. Die Wahl des Gesamtwassergehaltes als Bezugsgröße hatte sich schon in früheren Untersuchungen bewährt und wurde aus diesem Grunde auch bei den jetzigen Versuchen anderen Bezugsgrößen vorgezogen. Die Einstellung eines bestimmten Wasserdefizits wurde durch Abtrocknenlassen der Abschnitte bei Zimmertemperatur unter laufenden Gewichtskontrollen durchgeführt (s. BUTIN 1955).

Zu den Infektionsversuchen mit *Dothichiza* verwendeten wir den Stamm D 216, der im Frühjahr 1955 von rindenbranderkrankten Pappeln isoliert wurde und schon bei Versuchen zur Sporengewinnung eine kräftige Virulenz zeigte. Die zur gleichen Zeit isolierte *Cytospora chrysosperma* führt die Sammlungsnummer C 221. Ältere Stämme, sowohl von *Dothichiza* wie von *Cytospora* kamen nicht zur Verwendung, da bei beiden Pilzen die Gefahr der Virulenzabnahme zu bestehen schien.

Als Nährunterlage für die Pilzstämme diente im Autoklav sterilisierter Malzagar (3 % Malzextrakt, 1,8 % Agar) vermischt mit ½ ccm wäßrigen Rindenextraktes von *Populus deltoides* je 10 ccm Malzagar. Zur Gewinnung des Rindenextraktes schälten wir frische Pappelzweige bis zum Kambium ab und zerteilten die Rindenstreifen mit Hilfe eines Messers in kleinere Stücke. 10 g dieser Rindensubstanz wurden mit 10 ccm Wasser versetzt und nach zwei Stunden mit einer Mohrschen Tinkturenpresse ausgepreßt. Für die Kultur von *Cytospora chrysosperma* verwandten wir Malzagar ohne Zusatz. Als Impfmaterial nahmen wir mit Myzel überwachsene Agarscheibchen von 10 bis 14 Tage alten und bei 23 ° C gehaltenen Kulturen. Das mit einem Korkbohrer von 3 mm ⌀ ausgestanzte Inokulum wurde mit der Myzelseite auf die keilförmig eingeritzte Wunde der Pappelrinde aufgebracht und angedrückt.

Als „positiven" Infektionserfolg bezeichneten wir eine sich vom Infektionsort ausbreitende Rindenverfärbung von mindestens 5 mm. Der direkte Nachweis einer zum Haften gekommenen Infektion konnte durch mikroskopische Beobachtungen von Myzel in tiefer gelegenem Rindengewebe erbracht werden. Die Bewertung nach dem Vorhandensein von Pykniden war wegen der befristeten Versuchszeit nur in wenigen Fällen möglich. Als „negativ" wurde eine Infektion dann bezeichnet, wenn die in allen Fällen bis höchstens 1 mm weit vom Wundrand gebräunte Zone auch nach einer längeren Beobachtungszeit keine weitere Ausdehnung mehr zeigte. Geichzeitig beobachteten wir in solchen Fällen die Ausbildung eines Wundperiderms.

Der Beobachtung des Pilzmyzels in der Rinde der Pappel standen einige Schwierigkeiten entgegen, auf die schon KLEBAHN (1937) hingewiesen hat. Mit der Ausbreitung des Pilzes ist in den meisten Fällen eine braune bis schwarze Verfärbung der Rindenzellen verbunden, deren Ursache sehr wahrscheinlich auf die Oxydation besonders der Gerbstoffe zurückgeht. Eine Entfärbung oder Abschwächung des dunklen Farbtons mit den verschiedensten Mitteln ist uns bisher noch nicht gelungen, so daß wir bei mikroskopischen Untersuchungen auf dünne Gewebeschnitte angewiesen waren. Zur besseren Beobachtung der Hyphen behandelten wir die mit einem Rasiermesser angefertigten Schnitte mit einer verdünnten Pikrin-Anilinblau-Lösung. Für unsere Objekte erwies sich die von CARTWRIGHT (1929) empfohlene Anwendung einer gesättigten wässrigen Anilinblau-

Lösung zusätzlich zu einer vierfachen Menge gesättigter Pikrinsäure als zu stark. Nachteilig wirkte sich dieses vor allem durch Anfärben auch plasmatischer Bestandteile der Zellen aus, so daß eine Differenzierung von Hyphen in der Rinde nicht herbeigeführt wurde. Bessere Ergebnisse, ohne jedoch eine selektive Färbung zu erreichen, erzielten wir durch Verdünnung der Lösung mit der vierfachen Menge einer 20%igen alkoholischen Lösung. Die Färbung der Schnitte betrug in der Regel nur wenige Minuten; anschließend wurden diese in aqua dest. gespült und eventuell bei zu starker Anfärbung in 50%igem Alkohol ausgewaschen. Beim Nachweis von Pilzhyphen im Holz wurde die von CARTWRIGHT angegebene ursprüngliche Konzentration mit Erfolg angewandt; als vorteilhaft erwies sich hierbei die Gegenfärbung des Holzes mit einer 1%igen wässrigen Safraninlösung.

Da nach den Untersuchungen von SCHINDLER (1931), KÜNEMUND (1932) und ULLRICH (1955) die bisher bekannten Reaktionen auf Lignin nicht immer gleichsinnig verlaufen, führten wir den Holznachweis zu Anfang auf verschiedenem Wege durch. In einigen Fällen konnten durch Behandlung mit Chlorzinkjod verholzte Zellmembranen nachgewiesen werden, die auch eine positive Mäule-Reaktion abgaben, jedoch nicht auf Phlorogluzin-Salzsäure ansprachen. Diese Befunde deuten darauf hin, daß erst mit zunehmender Inkrustation der Membran bestimmte Substanzgruppen mit Phlorogluzin-Salzsäure reagieren. Nachdem es sich herausgestellt hatte, daß die Reaktion mit Phlorogluzin-Salzsäure (0,5%iges Phlorogluzin + 25%ige Salzsäure) für unsere Zwecke ausreichte, wurde auf die Durchführung anderer Verholzungsreaktionen weiterhin verzichtet.

2. Künstliche Infektionsversuche

a) Die Abhängigkeit des Infektionserfolges vom Wassergehalt der Pappel

1. Versuch

Ziel des ersten Versuches ist festzustellen, welchen Einfluß ein verschieden hoher Wasserverlust auf die Krankheitsbereitschaft der Pappel gegenüber *Dothichiza populea* hat und welche Unterschiede sich hierbei gegenüber Infektionen mit *Cytospora chrysosperma* ergeben.

Zur Durchführung des Versuchs wurden 40 Pappelabschnitte mit einem Durchmesser von 1 cm durch unterschiedlich lange Aufbewahrung bei einer Temperatur von 18 bis 20° C und einer Luftfeuchtigkeit von 60 bis 70% auf Stufen verschiedenen Wasserverlustes gebracht und an jeweils einer Stelle mit *Dothichiza*-Myzel beimpft. Als Kontrolle dienten zehn frische Abschnitte, die mit gleichem Impfmaterial behandelt waren. Zu Vergleichszwecken erfolgte an allen Abschnitten ebenfalls je eine Infektion mit *Cytospora chrysosperma*, so daß jeder der 50 Abschnitte eine Impfstelle von *Dothichiza* und eine weitere von *Cytospora* aufwies. Die Aufstellung des Versuchsmaterials erfolgte in Weckgläsern bei einer Temperatur von 19 bis 20° C. Versuchsbeginn: 8. 11. 1955; Dauer des Versuches: drei Wochen.

Ergebnis:

Tabelle 1

Infektionsergebnisse von *Dothichiza* und *Cytospora chrys.* an Pappelabschnitten verschieden hohen Wasserverlustes Temperatur: 18—20° C. Die zum Haften gekommenen Infektionen sind in Prozent angegeben

% Wasserverlust vom Gesamtwassergehalt	„positive" Infektionen mit	
	Dothichiza	*Cytospora*
0	0 %	0 %
5 — 10	0 %	0 %
10 — 15	34 %	0 %
15 — 20	60 %	2 %
20 — 25	80 %	75 %
25 — 35	90 %	—

Tabelle 1 zeigt die beobachtete Anfälligkeit der Pappelabschnitte in Abhängigkeit von verschieden hohen Wasserverlusten. Wie aus den steigenden Prozentzahlen der „positiven" Infektionen zu ersehen ist, besteht eine enge Beziehung zwischen Wasserverlust und Pilzanfälligkeit. Wassergesättigte Zweige scheinen gegen einen Pilzangriff sowohl von *Dothichiza* als auch von *Cytospora* „resistent" zu sein. Mit einem Wasserverlust von 10 % hat *Dothichiza* ihre Infektionsschwelle schon erreicht; die Infektionshäufigkeit steigt von diesem Wert, parallel mit höheren Wasserverlusten fast gleichmäßig an, um bei einem Wasserverlust von etwa 30 % eine Befallshäufigkeit von 90 % zu erreichen. Anders verläuft dagegen der Infektionserfolg von *Cytospora*. Die Grenzschwelle der Infektionen wird hier erst bei einem Wasserverlust von 20 % erreicht.

2. Versuch

Parallel zum ersten Versuch wurden 40 Pappelabschnitte mit einem Durchmesser von 1,5 bis 1,6 cm nach dem gleichen, vorigen Verfahren präpariert und mit *Dothichiza* und *Cytospora* beimpft. Die Aufstellung erfolgte ebenfalls bei einer Temperatur von 20° C. In Verbindung mit den Ergebnissen des ersten Versuchs soll geprüft werden, ob verschieden dicke Pappelabschnitte bei gleich hohem Wasserdefizit die gleiche Krankheitsbereitschaft aufweisen. Der Versuch hat vornehmlich methodische Bedeutung. Beginn des Versuchs: 21. 10. 1955.

Ergebnis:

In Abweichung von den Ergebnissen des ersten Versuches liegen die Infektionsschwellen von *Dothichiza* hier bei einem Wasserverlust von 20 % und die von *Cytospora* bei 30 %. In ähnlicher Weise verschiebt sich auch die Befallshäufigkeit, denn ein gleicher Prozentsatz „positiver" Infektionen wird, im Vergleich zum ersten Versuch, erst bei entsprechend höheren Wasserverlusten erreicht. Die Ursache dieser Differenz dürfte sehr wahrscheinlich auf das verschieden hohe Wasserreservoir der unterschiedlich dicken Pappelabschnitte zurückzuführen sein. Beim Eintritt der Infektions-

bereitschaft ist der physiologische Zustand der Rindenzellen in beiden Fällen der gleiche; nur wird er bei den jüngeren Pappelzweigen durch mangelnden Wassernachschub früher erreicht als bei dickeren. Für die Methodik ist aus diesen Ergebnissen zu folgern, daß bei einer Berechnung des Wasserverlustes, mit dem Gesamtwassergehalt als Bezugsgröße, die Dicke der entsprechenden Pappelzweigstücke berücksichtigt werden muß.

Der Befund, der sich aus den Versuchen 1 und 2 ergibt, zeigt eine deutliche Abhängigkeit der Rindenbranderkrankung und der *Cytospora*-Infektion vom „Wasserzustand" der Pappelabschnitte. Auffallend bei diesen Infektionsversuchen sind vor allem die unterschiedlichen Infektionsschwellen beider Pilze, die durch verschieden hohe Wasserverluste der Pappelabschnitte charakterisiert sind. Hiernach ist für einen „positiven" Infektionserfolg von *Cytospora* ein größerer Wasserverlust notwendig als für *Dothichiza*. Auf Grund der unterschiedlichen Infektionsschwellen beider Pilze besitzt *Dothichiza* offensichtlich stärkere parasitische Fähigkeiten als *Cytospora chrysosperma*. Für *Dothichiza* lassen sich jedenfalls andersgeartete Beziehungen zwischen Pilzangriff, Reaktion der Pflanze und Erkrankung erwarten, als es frühere Infektionsversuche mit *Cytospora chrysosperma* (Butin, 1955) gezeigt haben.

3. Versuch

In Verbindung mit dem zweiten Versuch soll die Frage geklärt werden, in welcher Beziehung die Ausdehnungsgeschwindigkeit der Nekrosen zu dem Wasserverlust der jeweiligen Pappelabschnitte steht. Zur Beantwortung dieser Frage wurden alle diejenigen Zweigabschnitte ausgewählt (30 Stück), die im zweiten Versuch die Schwelle der Infektion durch *Dothichiza* und *Cytospora* erreicht hatten. Da beide Pilze auf jeweils nur einen Pappelabschnitt aufgebracht waren, schieden qualitative Unterschiede, die in der Verschiedenheit der einzelnen Zweigabschnitte liegen konnten, aus. Die in Längsrichtung gehende Ausbreitung der einzelnen Nekrosen, die sich durch Bräunung der Rinde gut zu erkennen gaben, wurden täglich gemessen und markiert; gleichzeitig wurde das Gewicht der einzelnen Pappelstücke ermittelt. Die Aufstellung der Zweige erfolgte in 1-Liter-Weckgläsern bei einer Temperatur von 20° C.

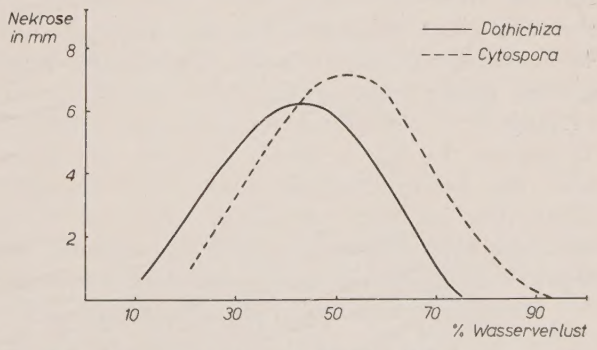


Abb. 1. Ausbreitungsgeschwindigkeit von *Dothichiza* und *Cytospora* im Rindengewebe verschieden wassergesättigter Pappelzweige, bezogen auf 24 Stunden. Temperatur: 20° C

Ergebnis:

Wie aus Abbildung 1 zu ersehen ist, verlaufen die beiden Kurven, welche die Ausbreitungsgeschwindigkeit von *Dothichiza* und *Cytospora* darstellen,

im Prinzip in ähnlicher Weise. Der Ausgangspunkt der Kurven beider Pilze liegt jedoch, gemäß ihren verschiedenen Infektionsschwellen, bei verschiedenen Werten des Wasserverlustes. Bis zum Erreichen ihres Optimums zeigt *Dothichiza* ein rascheres Wachstum als *Cytospora chrysosperma*. Bei einem Wassergehalt von 41 % kehrt sich dieses Verhältnis jedoch um, und *Dothichiza* erreicht schließlich bei weiter abnehmendem Wassergehalt der Pappelzweige ihr Wachstums-Minimum (75 %), *Cytospora* dagegen zeigt erst bei einem Wert von 91 % das Ende ihres Ausbreitungsvermögens. Aus dem Kurvenverlauf der Ausbreitungsgeschwindigkeit und den Werten der Wachstumsbegrenzung kann entnommen werden, daß sich die Wachstumsamplitude von *Dothichiza* auf wassergesättigtere Rindengewebe erstreckt, wogegen *Cytospora chrysosperma* die geeigneteren Bedingungen auf trockeneren und wasserärmeren Zweigen findet. Charakteristisch hierfür sind vor allem die Grenzwerte ihres Wachstumsvermögens. Eine Bedeutung ergibt sich aus diesen Ergebnissen besonders für die ökologische Betrachtungsweise ihres Auftretens im Freiland.

Unsere Befunde über die Abhängigkeit des Pilzwachstums von dem Feuchtigkeitsgrad der Unterlage decken sich mit den von HERMANN (1956) gemachten Beobachtungen. HERMANN kultivierte beide Pilze in verschieden gesättigten Dampfspannungen und stellte fest, daß *Dothichiza* ihr Wachstum schon bei 85,6 % r. D. einstellt, wogegen *Cytospora* ihre absolute Feuchtigkeitsgrenze erst bei 78,8 % erreicht.

b) Infektionsversuche bei verschiedenen Temperaturen

4. Versuch

Zur Prüfung des Temperatureinflusses auf den Verlauf einer *Dothichiza*-Infektion wurden 40 gleichartige, 1 cm dicke, wassergesättigte Pappelabschnitte mit *Dothichiza*-Myzel beimpft und bei verschiedenen Temperaturen aufgestellt. Die Dauer des Versuches betrug bei den niederen Temperaturen (+ 4 ° und + 8 ° C) sechs Wochen, bei den höheren Temperaturen (19 und 23 ° C) drei Wochen. Bei niederen Temperaturen mußten die Versuche insofern auf eine längere Zeit ausgedehnt werden, als hier das Wachstum des Pilzes nur wenig fortschreitet, so daß sich eine „positive" Infektion erst nach einer längeren Zeitspanne erkennen ließ. Tiefere Temperaturen als 4 ° C wurden nicht verwandt. Wachstumsversuche des Pilzes auf Malzagarplatten haben zwar gezeigt, daß der Pilz noch bei + 2 ° C zu wachsen vermag (in zwölf Wochen = 6 mm)[1]). Bei dieser Temperatur wird das Wachstum des Pilzes jedoch so stark gehemmt, daß eine sichere Aussage über den Infektionserfolg, ohne die Versuchsdauer von sechs Wochen zu übersteigen, in Frage gestellt ist. Bei — 1 ° C haben wir auch auf längere Zeit hin kein Wachstum feststellen können, und es ist anzunehmen, daß *Dothichiza* ihr Wachstumsminimum bei 0 ° C erreicht hat.

Versuchszeit: Oktober bis Dezember 1955.

[1]) Die Wachstumsversuche bei + 2 und — 1 ° C wurden im Geobotanischen Institut der Universität Göttingen durchgeführt. Für die freundliche Bereitstellung der Kühlschränke sei an dieser Stelle Herrn Professor FIRBAS nochmals gedankt.

Ergebnis:

Tabelle 2

Abhängigkeit des Infektionsverlaufes von der Temperatur
In der unteren Spalte ist die Befallshäufigkeit der mit *Dothichiza* beimpften Pappelabschnitte wiedergegeben

Temperatur	4 °	8 °	19 °	23 ° C
„positive" Infektion	84 %	78 %	0 %	0 %

Das Ergebnis der Infektionsversuche bei verschiedenen Temperaturen ist in Tabelle 2 aufgeführt. Die Zahlenwerte der beiden Spalten lassen eindeutig erkennen, daß der Ausgang einer Infektion von der Temperatur bestimmt wird. Die höchste Rate der zum Haften gekommenen Infektionen liegt mit 78 % bei 4 ° C. Die Temperatur von 19 ° C führt bei saftfrischen Pappelzweigen zu einer Infektions-„Resistenz", ebenfalls auch höhere Temperaturen. Niedrigere Temperaturen begünstigen offensichtlich das Gelingen einer Infektion. Gegenüber dem Versuch (3) mit nicht wassergesättigten Pappelzweigen ist vor allem die eine Beobachtung bedeutsam, daß *Dothichiza* bei niedriger Temperatur auch in saftfrischer Rinde zu wachsen vermag. Die Geschwindigkeit ihres Wachstums ist jedoch in solchen Fällen nicht übermäßig hoch; sechs Wochen nach der Infektion zeigten die Nekrosen des 4 °-Versuches einen Durchmesser von 1,0 cm und die des 8 °-Versuches einen solchen von 1,5 cm.

Unsere Ergebnisse stimmen in einigen Punkten mit denen von Hermann (1956) nicht überein, die u. a. bei saftfrischen Pappeln auch bei niederen Temperaturen keinen positiven Infektionserfolg erzielen konnte. Dieser Unterschied zu unseren Befunden läßt sich möglicherweise auf die Verwendung verschieden alter Pilzstämme zurückführen. Der in unseren Versuchen benutzte Pilzstamm wurde im Frühjahr 1955 isoliert; Hermann (1956) verwendete jedoch zwei von der Württemb. Forstl. Versuchsanstalt 1954 übernommene Pilzstämme, von denen nicht bekannt ist, wie lange sie vorher schon in Kultur gehalten worden sind. Über einen weiteren verwendeten Pilzstamm, der am 2. Mai 1952 von einem Institut in Wageningen übernommen wurde, fehlt ebenso das Datum der ersten Inkulturnahme. Eigene Versuche mit verschieden alten Pilzstämmen haben nun ergeben, daß die Virulenz und parasitische Penetranz von *Dothichiza* um so mehr nachläßt, je länger sie in Kultur gehalten wird; die bei Hermann (1956) angegebenen negativen Infektionserfolge bei niederen Temperaturen dürften demnach mit der Überalterung der verwendeten Pilzstämme in Zusammenhang gebracht werden können.

5. Versuch

Im folgenden Versuch wurden 20 frische Pappelabschnitte, die mit *Dothichiza*-Myzel beimpft waren, abwechselnd tiefer und höherer Temperatur ausgesetzt. Zu diesem Zweck setzten wir alle zwölf Stunden die mit dem Versuchsmaterial beschickten Gläser aus einem Raum mit 18 ° C in einen Kühlschrank von + 4 ° C um; es kam so ein Temperaturwechsel zustande, wie er unter Freilandbedingungen bei einem Wechsel von Tag und Nacht

in den Monaten März und April nicht selten auftritt. Durch die Art und Weise der Versuchsanordnung ist die Möglichkeit gegeben, die im Laboratorium gewonnenen Ergebnisse in etwa auf Freilandverhältnisse zu übertragen. Beginn des Versuches: 9. November 1955.

Ergebnis:

Nach einer Versuchsdauer von vier Wochen zeigten sich braune Rindenverfärbungen um die keilförmig eingeritzten Infektionsstellen. Der Durchmesser der Nekrosen betrug in Längsrichtung durchschnittlich 2 cm. Ein Wasserverlust der frisch infizierten Pappelabschnitte wurde nicht festgestellt. Es zeigt sich also auch hier, ähnlich den Ergebnissen des fünften Versuches, daß der „Wasserzustand" oder die Turgeszenz der frisch geschnittenen Pappelzweige für *Dothichiza* keinen Resistenzfaktor darstellt; auch eine zeitweilige Erhöhung der Temperatur auf 18 ° C läßt die Nekrosen nicht zum Stillstand kommen.

c) Infektionsversuche bei gleichzeitiger Veränderung von Temperatur und Feuchtigkeit

Aus den Befunden des ersten Versuches geht hervor, daß eine Abhängigkeit des Infektionserfolges und der Befallshäufigkeit von der Größe des Wasserverlustes der Pappelabschnitte besteht. Weiterhin zeigen der vierte und fünfte Versuch, daß die Krankheitsbereitschaft auch von der Temperatur bestimmt wird. Würde man die beiden Faktoren gleichzeitig verändern, so könnte erwartet werden, daß ein „positiver" Infektionserfolg auch durch ganz verschiedenartige Stellungen der Faktoren zueinander erreicht werden kann.

6. Versuch

In Ergänzung zu Versuch 1 wurden 25 Pappelabschnitte auf einen Wasserverlust von 4 . . . 5 % und 10 . . . 15 % eingestellt und mit *Dothichiza*-Myzel beimpft. Die Aufstellung erfolgte in Glasgefäßen bei Temperaturen von 4 °, 8 ° und 20 ° C.

Ergebnis:

Tabelle 3

Abhängigkeit des Infektionserfolges von Temperatur und Wasserdefizit der Pappelzweigstücke

Die zum „Haften" gekommenen *Dothichiza*-Infektionen sind in % zu verstehen

Temperatur	Wasserverlust der Pappelabschnitte in Prozent des Gesamtwassergehaltes		
	0 %	4....6 %	10....15 %
	„positive" Infektionen in Prozent		
4° C	84	—	90
8° C	78	85	85
20° C	0	0	34
23° C	0	0	—

Nach den Befunden der verschieden hohen Befallshäufigkeit, die in Prozenten in Tabelle 3 eingetragen sind, läßt sich eine gekoppelte Wirkung

von Temperatur und „Wasserzustand" der Pappelabschnitte erkennen. Sowohl eine Erniedrigung der Temperatur als auch ein Wasserverlust fördern die „positiven" Infektionserfolge; andererseits können beide Faktoren sich auch gegenseitig beeinflussen. So kann beim Vorliegen eines größeren Wasserverlustes (z. B. 15 %) die Gefahr einer Erkrankung durch ansteigende Temperaturen verringert werden. In gleicher Weise verschiebt sich auch die Krankheitsdisposition der Pappel, wenn bei niedrigen Temperaturen (4 und 8 °), die normalerweise das Eindringen des Pilzes in die Rinde fördern, der „Wasserzustand" auf das Optimum geführt wird. Feuchtigkeit und Temperatur können also ihre Wirkungsweise gegenseitig kompensieren oder in gleichgerichteter Weise verstärken.

Nach den Befunden der Befallshäufigkeit, die eine Abhängigkeit sowohl von der Temperatur wie vom Wasserverlust der Pappelabschnitte zeigten, ergibt sich zwangsläufig auch die Charakterisierung der Infektionsschwelle. Für die Bestimmung der Infektionsschwelle ist derjenige Faktor ausschlaggebend, der im Minimum vorhanden ist, dessen geringste Veränderung also den größten Ausschlag gibt (Gesetz der begrenzenden Faktoren). Bei optimalen Temperaturen von 20 und 23 ° C gilt der Wasserverlust (10 . . . 15 %) als Minimumfaktor; bei optimalen Feuchtigkeitsverhältnissen ist dagegen eine niedere Temperatur (8 °) begrenzender Faktor. Diese Wirkungsweise, die jedesmal dann beobachtet wird, wenn nur ein Faktor im Minimum gehalten wird, kann jedoch auch durch Veränderung beider Faktoren erreicht werden. Unter solchen Bedingungen wird die Schwelle der Infektion in sehr verwickelter Weise beeinflußt. Der Begriff der Infektionsschwelle kann also einmal als „Feuchtigkeits"-Schwelle, ein andermal als „Temperatur"-Schwelle und im dritten Falle durch gekoppelte Wirkung beider Faktoren charakterisiert werden.

3. Mikroskopische Befunde der Infektionsversuche

a) Die Ausbreitung der Pilze im Rindengewebe

Die Besiedlung der Pappelrinde durch *Dothichiza populea* setzt bestimmte parasitische Fähigkeiten voraus, die den Pilz von saprophytisch lebenden Organismen in grundsätzlicher Weise unterscheiden. Als Voraussetzung für die parasitische Eignung müssen nach GÄUMANN (1951) die Erreger die Fähigkeiten besitzen,

1. den Wirtskörper aufzuschließen und die anfallenden Nährstoffe zu assimilieren,
2. die Reaktionen des Wirtes zu ertragen oder zu überwinden und
3. durch ihre Stoffwechselprodukte den Wirt erkranken zu lassen.

In Bezug auf die Rindenbranderkrankung der Pappel und die Art ihres Auftretens kann erwartet werden, daß auch *Dothichiza* spezifische Fähigkeiten besitzt, die sich nach den von GÄUMANN gegebenen Gesichtspunkten erkennen lassen.

Dothichiza wird allgemein zu den Wundparasiten gerechnet und benötigt demnach Rindenverletzungen, nekrotische Organteile oder noch un-

verthyllte Gefäße der Blattnarben, um in das Innere der Rinde einwandern zu können. Die bisherigen mikroskopischen Beobachtungen über das Vordringen von *Dothichiza*-Hyphen im Rindengewebe der Pappel beschränken sich auf Mitteilungen von KLEBAHN (1937); nach seiner Beschreibung verlaufen die Hyphen des Pilzes „in dem parenchymatischen Gewebe zwischen den Bastfaserbündeln, wesentlich im Lumen der Zellen und anscheinend die Zellwände durchbohrend". Die Beobachtung KLEBAHNS konnte durch eigene Untersuchungen bestätigt werden. Der Typus der intrazellulären Ausbreitung von *Dothichiza* findet sich in der Regel im äußeren Rande des Nekrosefeldes, dort, wo sich Pilzhyphen in noch nicht vom Pilz befallene Gewebeteile vorschieben. In den dahinterliegenden Gewebepartien treten jedoch um so häufiger auch interzellulär wachsende Hyphen auf, je weiter sie sich vom äußeren Nekroserand entfernen. Das Auftreten solcher, außerhalb des Zellumens wachsender Hyphen läßt sich auf die starke Auflockerung und Mazerierung des schon älteren nekrotischen Gewebes zurückführen; denn je länger das Gewebe dem Einfluß des Pilzes ausgesetzt ist, um so schneller tritt ein allgemeiner Zerfall des Gewebes ein, welcher auch eine interzelluläre Ausbreitung des Pilzes ermöglicht.

Der Vorgang der intrazellulären Ausbreitung dürfte sehr wahrscheinlich auf enzymatischem Wege vor sich gehen. Wie aus Abbildung 2 ersehen werden kann, vermögen die Hyphen von *Dothichiza* die Wände parenchymatischer Zellen zu durchdringen und auf diese Weise die Zellinhaltsstoffe aufzuschließen. Der Durchdringung der Zellwand geht hierbei vielfach die Bildung von Appressorien voraus, die sich der Zellwandung eng anlegen und einen meist nur 2 μ dicken Hyphenfaden durch die Zellwand in das Innere der Zelle vordringen lassen. Am Innenrand der Zellwand schwillt die Hyphe wiederum bis zu einer Größe von 5 μ an, um sich bei weiterem Vordringen in das Lumen der Zelle wieder zu verengen. Diese „Primärhyphen", die als erste die Besiedlung des Wirtsgewebes vornehmen, sind meist von dünnfädiger Beschaffenheit. Ein anderer Typus findet sich in schon älteren nekrotischen Zellen und vor allem in den später entstehenden Interzellularen. Hier besitzen die Hyphen eine durchschnittliche Dicke von 6 μ. Ihr Lumen ist reichlich mit plasmatischen Inhaltsstoffen und stellenweise mit rundlichen sudananfärbbaren Körpern angefüllt. Sehr wahrscheinlich geht die Bildung solcher Hyphenformen auf besonders günstige Ernährungsverhältnisse zurück.

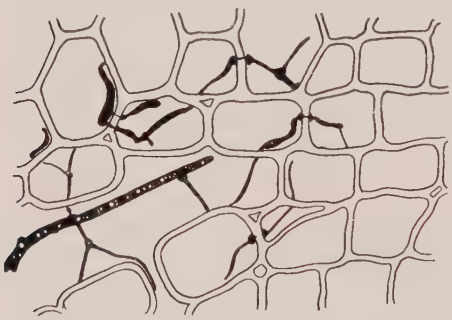


Abb. 2. Ausbreitung des Myzels von *Dothichiza* im Rindenparenchym der Pappel. Vergrößerung etwa 500fach

Als Eigentümlichkeit in der Ausbreitung der Hyphen kann weiterhin noch die Art der Verzweigung angeführt werden. Bei interzellularem Wachstum der dickeren „Masthyphen" werden vielfach rechtwinklige Abzweigungen beobachtet, bei den dünneren „Fadenhyphen" dagegen dicho-

tom spitzwinklige. Im letzteren Falle finden sich an den Stellen der Verzweigungen oder kurz davor knotige Anschwellungen.

Die verschiedenen Formen der Pilzhyphen, ihre Art der Verzweigung und der Mechanismus, auf welche Weise die Zellwand durchbohrt wird, haben wir in den Untersuchungen nekrotischer Infektionsstellen wiederholt beobachten können. Ihr Vorkommen beschränkt sich jedoch nicht auf das Rindengewebe noch lebender Pappelabschnitte; die gleiche Erscheinung des Pilzwachstums konnte auch in abgetötetem Gewebe autoklavierter Pappelzweige beobachtet werden, so daß die Ausbildung spezieller Hyphenformen demnach kein Charakteristikum für lebendes Gewebe sein kann.

Außer der Besiedlung des parenchymatischen Rindengewebes vermag der Pilz darüber hinaus in jüngere Holzschichten einzudringen, wie schon aus den Beobachtungen Klebahns hervorgeht. Die Einwanderung des Pilzes erfolgt hier sehr wahrscheinlich auf dem Wege durch die Markstrahlen. Besonders bei frischen, erst acht Tage alten Nekrosen beobachteten wir Pilzhyphen vorzugsweise in den äußeren Markstrahlzellen der jüngeren Holzschichten, die von dort durch die Tüpfel und Lumina der Gefäße in die benachbarten Holzzellen eindrangen. Im Unterschied zu den Hyphenformen des Rindengewebes werden im Holz ausschließlich dünne, teilweise nur 1 μ dicke Pilzfäden ausgebildet.

b) Die pathogene Wirkung von Stoffwechselprodukten des Pilzes

Für die Wirtspflanze bedeutet die Besiedlung durch den Pilz den Beginn einer Erkrankung, deren Symptome die Verfärbung der Zellinhaltsstoffe und schließlich die Auflösung des befallenen Gewebes sind. Das eingewanderte Myzel besitzt also die Fähigkeit, gesundes Gewebe erkranken zu lassen.

Für das Krankheitsgeschehen und die ersten Krankheitssymptome des Rindenbrandes sind nun folgende Beobachtungen von Bedeutung. Vergleicht man die augenblickliche Lage und Lokalisation der Hyphen mit dem Auftreten der ersten Gewebeschädigung, so kann man feststellen, daß den äußersten Pilzfäden stets eine Zone nekrotischer Zellreihen vorgelagert ist. Die Ausbreitung des Myzels im Rindengewebe der Pappel scheint so vor sich zu gehen, daß den Hyphen pathogene Stoffe vorausdiffundieren, welche die Zellen des Wirtes schon vor dem Eintreffen des Krankheitserregers zum Absterben bringen. Die Hyphen kommen also selbst nie mit lebenden Zellen direkt in Berührung, sondern dringen in schon abgetötete Gewebezonen ein; sie ernähren sich von den Inhaltsstoffen schon toter Zellen und sind damit als Saprophyten bzw. Perthophyten im Sinne Münchs (1929) zu bezeichnen.

Die Wirksamkeit der vordiffundierenden Stoffe des Pilzes läßt sich mit bloßem Auge an der braunen Verfärbung der Rinde erkennen. Diese makroskopische Beurteilung scheint jedoch nicht immer ausreichend zu sein, die Wirkungssphäre des Pilzes ganz zu erfassen. Wir konnten auf mikroskopischem Wege verschiedentlich beobachten, daß die den braungefärbten Zellen sich anschließenden Nachbarzellen ein glasiges Aussehen bekamen und ihre

Chloroplasten abbauten. Auch in weiterer Entwicklung der Nekrose blieben diese weniger gebräunten Zellreihen erhalten und bildeten nach dem Fortschreiten der Nekrose die für *Dothichiza* typischen, konzentrisch um den Infektionsort angeordneten helleren Ringe innerhalb der dunkelverfärbten Rinde. Je wassergesättigter die Rinde war und je langsamer der Pilz vordrang, um so häufiger konnten wir die Ausbildung einer glasigen und ganz schwach gebräunten Zone beobachten; nach einem Wasserverlust des Pappelabschnittes von 30 % blieb die Ausbildung verschieden gefärbter Nekrosezonen schließlich aus.

Dieses Krankheitsbild scheint für den Rindenbrand der Pappel typisch zu sein, ist jedoch auch schon bei anderen Pflanzenkrankheiten beobachtet worden, ohne daß eine allgemeingültige Erklärung dafür gefunden worden ist. Da die Ausbildung zonenartiger Verfärbungen an lebendes Rindengewebe geknüpft ist, dürfte es sich beim Rindenbrand um spezifische Reaktionen der Pappelrinde handeln, die mit einem periodischen Wachstum des Erregers zusammenhängen. Einen Hinweis auf das periodische Wachstum des Pilzes gibt vor allem die Beobachtung, daß die Breite der pilzfreien nekrotischen Zone während der Erweiterung einer Nekrose keine konstante Größe aufweist; diese schwankt vielmehr zwischen 2 und 20 Zellen. Der Abstand zwischen der Hyphenspitze und der ersten getöteten Zelle kann also ein verschieden großer sein. Einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Breite der Diffusionszone und den Umweltfaktoren haben wir eindeutig bisher noch nicht feststellen können. Möglicherweise wird das Permeabilitätsvermögen des Wirkstoffes durch die verschieden hohe Wassersättigung der Rindenzellen beeinflußt.

Neben dem makroskopischen Nachweis gelang es, die Fernwirkung toxischer Stoffe noch durch ein weiteres Verfahren nachzuweisen. Zu diesem Versuch lösten wir die obersten Zellschichten eines sichtbar befallenen Pappelabschnittes sorgfältig von dem noch verbleibenden Rindengewebe ab, so daß die nekrotischen, braun verfärbten und die noch grünen Parenchymzellen frei zu liegen kamen. Anschließend kultivierten wir die Zweigstücke in wasserdampfgesättigten Glasgefäßen bei einer Temperatur von 23 ° C. Nach 24 Stunden hatte sich im Zentrum des Nekrosefeldes ein dichter Myzelrasen ausgebildet, von dem sich nach außen hin eine 1 . . 2 mm breite pilzfreie Randzone toter brauner Zellen scharf abgrenzte. Das daran anschließende plasmolysierbare grüne Parenchymgewebe zeigte eine nur geringe oxydative Verfärbung, die auf Einwirkung der Luft zurückzuführen ist. Im Vergleich zu den mikroskopischen Befunden läßt auch dieser Versuch die Annahme zu, daß die Hyphen spezifische Stoffe vor sich her diffundieren lassen, welche auf die infiltrierten Zellen toxisch wirken.

Um Näheres über die Entstehungsweise und den Wirkungsmechanismus der pathogenen Stoffe von *Dothichiza* zu erfahren, stellten wir eine Reihe von Versuchen an, die teils in Verbindung mit dem Wirt, teils mit anderen Organismen nach mikrobiologischen Methoden durchgeführt wurden. Es zeigte sich, daß *Dothichiza* leicht in bestimmten Nährflüssigkeiten als Reinkultur gezüchtet werden kann und daß im Kulturfiltrat der Lösung Stoffe

vorkommen, die ähnliche pathogene Reaktionen auslösen, wie sie auch in vivo beobachtet werden können. Nach ihrer chemischen Natur setzt sich der Wirkstoff des Pilzes aus mindestens zwei verschiedenen Komponenten zusammen, von denen einer eine oxydative Wirkung zukommt. Wie Kulturversuche auf tanninhaltigen Agarplatten gezeigt haben, handelt es sich hierbei sehr wahrscheinlich um eine Polyphenoloxydase[1]). Einen Hinweis auf die chemische Umsetzung in nekrotischem, von *Dothichiza* befallenem Gewebe gibt weiterhin noch die Wahrnehmung bestimmter, dem Anilin ähnlich riechender, aromatischer Stoffe, die bei der Nekrotisierung frei gemacht oder vom Pilz neu gebildet werden.

c) Mechanische Abwehrreaktionen

Nach den mikroskopischen Befunden, die sich aus früheren Arbeiten (Butin, 1955) über die Beziehung zwischen Rindenreaktion und der Anfälligkeit gegenüber *Cytospora chrysosperma* ergeben haben, liegt der Gedanke nahe, daß auch das Gelingen einer *Dothichiza*-Infektion auf mangelnder Reaktionsfähigkeit der Rindenzellen beruht.

Untersucht man die Wundränder der mit *Dothichiza* beimpften Rindenverletzungen, so ergibt sich, je nach der Veränderung der Temperatur oder des Wassergehaltes der Pappelabschnitte, ein recht verschiedenartiges Bild. Die Befunde der mikroskopischen Untersuchungen sind in Abbildung 3 in schematischen Zeichnungen wiedergegeben.

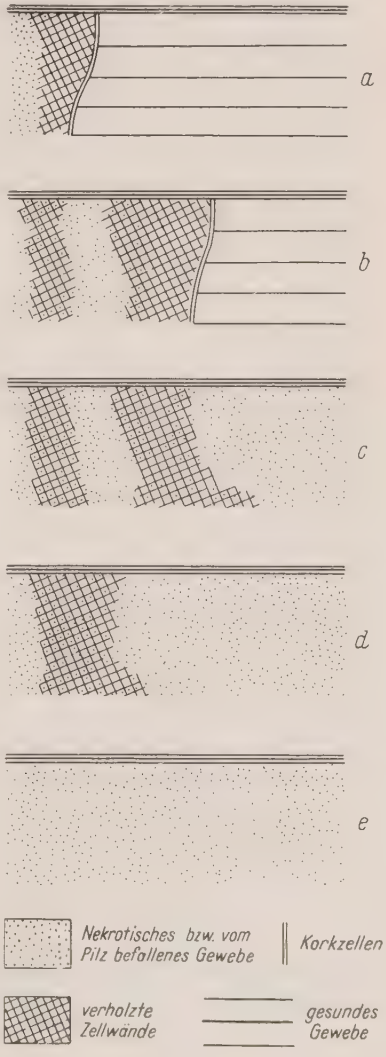


Abb. 3. Mikroskopische Befunde der Infektionsversuche mit *Dothichiza populea* (schematisiert). Die einzelnen Teilbilder stellen Querschnitte durch den Wundrand verschieden behandelter Rindenverletzungen dar. Die ursprüngliche Schnittfläche liegt auf der linken Seite des Bildes; den Angriff des Pilzes muß man sich also von derselben Seite aus vorstellen.

a) Ohne Infektion, ohne Wasserverlust. Temperatur: 20 ° C. b) Nach einer Infektion, ohne Wasserverlust. Temperatur: 20 °. c) Nach einer Infektion, mit einem Wasserverlust von 15 %. Temperatur: 20 °. d) Nach einer Infektion, ohne Wasserverlust. Temperatur: 8 °. e) Nach einer Infektion, mit einem Wasserverlust von 25 %. Temperatur: 20 °

[1]) Über die Befunde dieser Untersuchungen soll zu einem späteren Zeitpunkt berichtet werden.

Zunächst zeigt Teilbild a) der Abbildung 3, welche histologischen Veränderungen an dem Wundrand einer nicht beimpften Rindenverletzung eines frischen Pappelzweiges vor sich gehen. Die Abgrenzung der Wunde zu dem noch grünen Parenchymgewebe geschieht schon nach wenigen Tagen durch ein einfaches oder mehrschichtiges Korkgewebe, dem eine breitere Zone verholzter Zellen vorgelagert ist. Nekrotische Zellen, die durch Austrocknen der äußersten Gewebeschicht entstehen, finden sich nur sehr wenige. Ähnlich verläuft auch der Wundheilungsprozeß an wasserärmeren Pappelzweigen; der einzige Unterschied besteht hier nur in der verlangsamten Ausbildung des Wundperiderms. Wird eine solche gleichartige Wunde beimpft, ohne daß die Reaktionsfähigkeit der Pappel durch Temperaturerniedrigung oder Wassermangel geschwächt wurde, so verlagert sich die Bildung des Wundperiderms in tiefer gelegene Gewebeschichten (Teilbild b). Der Infektionserfolg verläuft in einem solchen Fall negativ, obwohl man annehmen darf, daß der Pilz hierbei eine mehr oder weniger große Gewebezone abgetötet und besiedelt hat. Charakteristisch für das aktive Vordringen des Pilzes und für die erste, vergeblich versuchte Gegenreaktion der Pflanze ist die in Wundnähe ausgebildete Zone verholzter Zellen.

Einen gleichen Effekt, wie er in Teilbild b) wiedergegeben ist, erhielten wir auch dann, wenn wir statt des Inokulums einige Tropfen des Kulturfiltrates von *Dothichiza* mehrere Tage lang auf die Wunde einwirken ließen. Es darf demnach angenommen werden, daß bestimmte pathogene Prinzipien vom Pilz gebildet und abgeschieden werden, die auf die Zellen der Pflanze toxisch wirken. Eine Gegenreaktion kann also nur dort erfolgen, wo das Rindengewebe der Pappel nicht der Einflußsphäre des Pilzes unterliegt.

In einer früheren Arbeit (BUTIN, 1955) wurde bereits gesagt, daß die Ausbildung eines Wundperiderms vom jeweiligen „Wasserzustand", d. h. von der Größe des Wasserverlustes abhängt. Gleichzeitig konnte nachgewiesen werden, daß die Krankheitsanfälligkeit der Pappel gegenüber *Cytospora chrysosperma* von dem Fehlen bzw. der Ausbildung einer histogenen Barriere abhängt.

Wie Teilbild b) und c) erkennen lassen, ist die Übertragung dieser Vorstellung auch auf den Krankheitsablauf einer *Dothichiza*-Infektion möglich. Die Ausbildung eines Wundperiderms frischer Pappelzweige (Teilbild b) führt zu einer Ausbreitungsresistenz gegenüber *Dothichiza*. Nimmt der Wassergehalt ab, so werden zwar noch Zonen verholzter Zellen ausgebildet, die sich sogar mehrfach wiederholen können; eine endgültige Abriegelung des Krankheitsherdes wird hierdurch jedoch nicht erreicht. Bei höheren Wasserverlusten (z. B. 25 % in Teilbild f) fehlt jede histogene Gegenreaktion der Pflanze, und der Pilz vermag sich demzufolge ungehindert in der Rinde auszubreiten.

Die Frage, ob verholzte Zellwände überhaupt als mechanische Barriere eine Bedeutung haben können, kann auf Grund unserer Beobachtungen verschieden beantwortet werden. Zunächst ist man versucht, die Abwehr eines Pilzangriffes als unmittelbare Folge der Peridermbildung anzusehen. Es läßt sich im mikroskopischen Präparat jedoch nachweisen, daß Pilzhyphen

schon innerhalb einer stark verholzten Gewebezone ihr Wachstum einstellen und nicht mehr bis zur Korkschicht vordringen. Andererseits haben wir aber beobachtet, daß gering verholzte Parenchymzellen von *Dothichiza* ohne Schwierigkeit durchdrungen werden können (Teilbild c und e). Die Wirksamkeit verholzter Zellwände wird demnach so zu deuten sein, daß die Fähigkeit der Hyphen, verholzte Wände zu durchdringen, von dem Grad und der Stärke der Verholzung abhängt. Meist ist ein stärkerer Verholzungsprozeß mit der gleichzeitigen Bildung eines Phellogens gekoppelt, so daß ein ursächlicher Zusammenhang zwischen Resistenz und Peridermbildung meist verfrüht aufgestellt wird. In einigen Fällen dürfte aber schon eine Zone stark verholzter Zellen die Funktion einer Ausbreitungsresistenz allein übernehmen können.

Wie aus den Infektionsversuchen bei verschiedenen Temperaturen hervorgeht, gelingt es, auch durch die Herabsetzung der Temperatur auf 8 und 4 ° C die Krankheitsbereitschaft der Pappel zu steigern. An Hand des Teilbildes e) kann der Einfluß des Temperaturfaktors auf das Gelingen einer künstlichen *Dothichiza*-Infektion nun in gleicher Weise darauf zurückgeführt werden, daß bei niederer Temperatur die Abwehrreaktion der Pflanze langsamer verläuft, als die Hyphen des Pilzes vorzudringen vermögen. Es liegt also hier ein der Wirkung des Wasserfaktors gleichgerichteter Mechanismus vor.

Diskussion

Die Ergebnisse der Infektionsversuche zeigen, daß es gelingt, die Krankheitsbereitschaft gegenüber *Dothichiza populea* durch Veränderung des Wassergehaltes der Pappel und des Temperaturfaktors zu verschieben. Sowohl ein erhöhter Wasserverlust als auch die Erniedrigung der Temperatur auf 8 und 4 ° C lassen die Krankheitsanfälligkeit der Pappel ansteigen.

Die Befunde der mikroskopischen Untersuchungen haben erkennen lassen, daß zwischen der Krankheitsbereitschaft und der Reaktionsfähigkeit der Pappel eine enge Beziehung besteht. Der Pilz vermag nur dann in das Rindengewebe einzudringen, wenn die Bildung des Wundperiderms ausbleibt. Der Ausgang einer *Dothichiza*-Infektion ist also im wesentlichen dadurch bestimmt, wann die Pflanze dem vordringenden Pilz eine Barriere entgegenstellen kann, ausgezeichnet durch Verholzung der Zellwände oder Bildung eines Korkgewebes. Es ist hierbei nun nicht mit Sicherheit zu sagen, ob der auslösende Faktor für eine Wundheilung in den Wundhormonen (Haberlandt, 1923) zu suchen ist oder ob die Peridermbildung direkt vom Pilz induziert wird, wie z. B. Struckmeyer (1951) für die histogenen Abwehrreaktionen der Blasenrostinfektion bei der Kiefer angibt. Auf Grund der toxisch wirkenden Stoffwechselprodukte des Pilzes dürfte am ehesten angenommen werden, daß die Wundheilung nicht unmittelbar vom Parasiten ausgelöst wird, sondern von der Nekrose, die er erzeugt. Nach dieser Vorstellung geht also der Wundperidermbildung eine Reihe verschiedenartiger Reaktionsabläufe voraus, von denen der Pilz als auslösender Faktor nur das erste Glied der Kette darstellt.

Aus der Gegenüberstellung der Infektionsergebnisse von *Dothichiza* und *Cytospora chrysosperma* geht hervor, daß *Dothichiza* stärkere parasitische Fähigkeiten besitzt, da sie das Gewebe der Pappel schon bei einer geringeren Abnahme ihrer Vitalität erkranken läßt. Die Infektionsschwelle von *Dothichiza* ist bei einem Wasserverlust des Pappelabschnittes von 10 % erreicht, wogegen *Cytospora* erst bei einem höheren Wasserverlust der Pappel (20 %) zum Haften kommt.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß die Feuchtigkeitsansprüche beider Pilze unterschiedlich sind. *Dothichiza* besitzt eine Wachstumsamplitude bei einem Wassergehalt der Rinde von 90 . . . 25 % Gesamtwassergehalt, wogegen *Cytospora* ihr Wachstumsspektrum auf trockeneren Zweigen findet (Amplitude von 10 bis 80 %). Die Ergebnisse bestätigen damit die Vermutung, die man bisher über die Wachstumsbedingungen der Pilze bei Freilandbeobachtungen gemacht hat; denn auch hier zeigte es sich, daß schneller austrocknende Seitenzweige ausschließlich von *Cytospora* befallen werden, nur selten aber von *Dothichiza*.

Neuerdings hat auch HERMANN (1956) bei Kulturversuchen des Pilzes in verschieden wasserdampfgesättigter Luft nachweisen können, daß *Dothichiza* größere Ansprüche an die Feuchtigkeit stellt als *Cytospora*. Auf Grund ihrer Untersuchungen rechnet sie *Dothichiza* zu den mesophilen und *Cytospora chrysosperma* zu den xerophilen Pilzen, gemäß der Walterschen Gruppeneinteilung.

Neben der größeren „Wasserverträglichkeit" von *Dothichiza* gegenüber *Cytospora chrysosperma* läßt sich die Charakteristik der beiden Pilze noch durch weitere, feinere Unterschiede in ihrem Verhalten zur Wirtspflanze belegen. So besitzt *Dothichiza* die Fähigkeit, intrazellulär vorzudringen, wogegen *Cytospora* eine ausschließlich interzelluläre Ausbreitung zeigt. Der wesentliche Unterschied beider Pilze dürfte jedoch darin zu suchen sein, daß *Dothichiza* durch toxisch wirkende Stoffwechselprodukte das Rindengewebe der Pappel erkranken zu lassen und schließlich abzutöten vermag. Eine Auswirkung dieser toxischen Aktivität zeigt sich besonders in Bezug auf die mechanischen Abwehrreaktionen der Wirtspflanze; denn ein Wundperiderm kann nur dort gebildet werden, wo es nicht der Wirkungssphäre des Pilzes unterliegt. Es ist daher verständlich, daß auch bei einer reaktionstüchtigen Vernarbung einer beimpften Wunde die Peridermbildung so weit in tiefere Gewebsschichten verlagert wird, als sie ungehindert vor sich gehen kann. Bei einer Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit der Pappel kann dagegen der Pilz gegebenenfalls schneller vordringen, als eine mechanische Gegenreaktion einsetzen kann. In solchem Falle geht der Wettlauf des Pilzes mit der Ausbildung eines Wundperiderms zugunsten des Pilzes aus. Um nochmals den Vergleich mit *Cytospora* heranzuziehen, kann man sagen, daß bei einer Rindenbranderkrankung die Wundperidermbildung häufiger vereitelt wird, wo sie unter den gleichen Bedingungen bei einer *Cytospora*-Infektion noch als Faktor der Infektions- und Ausbreitungsresistenz in Funktion treten kann. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen in der Bedeutung der Wundreaktion für den Infektionserfolg kommt HERMANN (1956), die

ausführliche Studien über die Wundreaktion in Abhängigkeit vom Wasserverlust und der Temperatur gemacht hat.

Im Zusammenhang mit unseren Ergebnissen sind einige Infektionsversuche von Interesse, die v. Vloten (1938) und Schmidle (1953) im Freiland durchgeführt haben. Bei laufenden Infektionen an ungeschwächten Pappeln fanden sie eine erhöhte Anfälligkeit gegen *Dothichiza* in der Zeit von Dezember bis März, also in der Zeit der Vegetationsruhe. Nachdem unsere Laboratoriumsversuche ergeben haben, daß in saftfrischen Pappeln nur bei niedrigen Temperaturen eine Ausbreitung des Pilzes möglich ist, läßt sich die saisonbedingte Anfälligkeit mit den veränderten Temperaturverhältnissen in Beziehung bringen. Die Frage der jahreszeitlichen Resistenz wäre damit eine Frage der Temperatur. Der Wasserfaktor wird nur insofern Einfluß auf die jahreszeitlich bedingte Anfälligkeit haben, als die Geschwindigkeit der Pilzausbreitung vom Grad der Wassersättigung der Pappel bestimmt wird.

Unter Freilandbedingungen wird die Infektionsschwelle für *Dothichiza* dann erreicht sein, wenn das Reaktionsvermögen der Pflanze geringer ist als das Wachstum des Pilzes. Für das Gelingen einer Infektion wird also nicht das Optimum des Reaktionsvermögens bzw. das des Pilzwachstums entscheidend sein, sondern die Minima beider Vorgänge. Nach den Ergebnissen unserer Infektionsversuche wird die Grenze des Reaktionsvermögens der Pflanze bei niederen Temperaturen eher erreicht als das Minimum des Pilzwachstums. Es lassen sich hieraus wesentliche Schlüsse für die Bewertung der Rindenbrandschäden im Freiland und ihre Krankheitsbedingungen ziehen.

Bei der Auswertung der Infektionsversuche sind bestimmte Formulierungen angewandt worden, die wir als „negative" bzw. „positive" Infektionserfolge angeführt haben. Es soll nun erörtert werden, ob diese Definitionen für die Bewertung einer Infektion ausreichend sind.

Dothichiza gehört zu den Wundparasiten; für eine Besiedlung der Pappel ist also eine Eintrittsöffnung notwendig, die in unseren Infektionsversuchen durch mechanisches Anritzen der Rinde geschaffen wurde. Bei einem positiven Verlauf der Infektion führte das Auflegen des Inokulums zu einer makroskopisch sichtbaren Nekrose der Rindenzellen von mindestens 5 mm Breite, die sich mit der Zeit noch weiter ausbreitete. Der Pilz hatte sich hier also manifestiert und mit der Besiedlung der Pflanze begonnen. Mit dem Ausdruck des „negativen" Infektionserfolges wurde das Fehlen jeglicher Rindenverfärbung, auch auf eine längere Zeit hin, bezeichnet. Im Unterschied zu dieser makroskopischen Bewertung der Infektion ergeben mikroskopische Beobachtungen eines „negativen" Infektionserfolges jedoch ein etwas anderes Bild. Vergleicht man den Wundabschluß einer beimpften Rindenverletzung mit dem Wundrand eines nicht beimpften Rindeneinschnitts, so sieht man auf dem Schnitt der beimpften Wunde eine deutliche Verlagerung des Wundperiderms in tiefer gelegene Gewebeschichten. Bei dieser „negativen" Infektion ist der Pilz also doch schon zum Haften gekommen, ohne daß jedoch eine größere Ausdehnung erfolgen konnte.

Wie wichtig diese Befunde mikroskopischer Beobachtungen für die Bewertung einer Infektion sind, beweisen die Ergebnisse anderer Untersucher, die längere Zeit nach einer „negativ" verlaufenen Infektion den Beginn einer Rindenbranderkrankung beobachteten. SCHMIDLE (1953) berichtete zuerst von künstlichen Rindeninfektionen mit *Dothichiza*, die ein Jahr nach der Vernarbung der Wunde zu typischen Rindenbrandnekrosen aufbrachen. Dasselbe teilte SCHÖNHAR (1955) mit. Auf Grund dieser Beobachtungen muß damit gerechnet werden, daß dem Ausbruch der Erkrankung ein längeres Latenzstadium vorausgehen kann, in welchem der Pilz innerhalb der überwallten Wunde eingeschlossen und verborgen bleibt. In diesem Zusammenhang dürfte auch unserer Beobachtung über das Vorkommen von Pilzhyphen im Holzkörper der Pappel als verborgener Krankheitsherd eine besondere Bedeutung beizumessen sein.

Die Beziehung zwischen der parasitischen Eignung von *Dothichiza* und den Bedingungen für die Besiedlung einer Pappelpflanze führt zur Frage, inwieweit die Bezeichnung des Erregers als „Schwächeparasit" bestehen bleiben kann. Nach der Einteilung von MÜNCH (1929) gehört *Dothichiza* zur Gruppe der Perthophyten, die das Wirtsgewebe zuerst abtöten und anschließend erst besiedeln; ein weiteres Merkmal des Pilzes besteht darin, daß zu seiner Entfaltung bestimmte Dispositionszustände der Wirtspflanze notwendig sind. Nach diesen Eigentümlichkeiten dürfte die Bezeichnung „Schwächeparasit" für *Dothichiza* zunächst beibehalten werden. Beim Vergleich mit *Cytospora chrysosperma*, die ebenfalls zu den Perthophyten und Schwächepilzen (SCHMIDLE, 1953; BUTIN, 1955) gerechnet wird, dürften *Dothichiza* jedoch stärkere parasitische Fähigkeiten zukommen, die den Erreger des Rindenbrandes grundsätzlich von *Cytospora chrysosperma* unterscheiden. In der Reihe der „Schwächeparasiten" gibt es offensichtlich eine Stufenleiter stärker und schwächer parasitisch wirksamer Pilze, deren Lebensbedingungen an verschiedene Dispositionszustände der Wirtspflanze gebunden sind. Eine niedrige Stufe nimmt hierbei *Cytospora chrysosperma* ein, die ihren Lebensraum auf absterbenden und langsam austrocknenden Pappelzweigen findet. Auf einer höheren Stufe der parasitischen Leistungsfähigkeit steht *Dothichiza populea*, die schon bei einer geringeren Abnahme der Vitalität der Wirtspflanze, durch eine geringe Senkung der Turgeszenz und Erniedrigung der Temperatur, zum Haften kommen kann.

Beurteilt man das Auftreten des Pilzes nach Freilandbeobachtungen, so kann man *Dothichiza* als „Saisonparasit" bezeichnen, da er meist nur dann beobachtet wird, wenn die Pappel sich in einem durch die Jahreszeit bedingten empfänglichen und geschwächten Zustande befindet. Die Bezeichnung *Dothichiza* als Schwächeparasit ist demnach eine Definitionsfrage, ob auch unter dem Gesichtspunkt der jahreszeitlichen Anfälligkeit die bisherige Bezeichnung des Rindenbranderregers bestehen bleiben soll. Bekanntlich gibt es eine Menge fakultativer Parasiten, die nur während der Vegetationsruhe die Wirtspflanzen, vor allem Holzgewächse, angreifen und besiedeln können. Von einer krankhaft verminderten Vitalität des Wirtes kann in solchen Fällen jedoch nicht gesprochen werden, und es erscheint daher notwendig,

auch *Dothichiza* auf Grund ihrer betont parasitischen Eigenschaft eine besondere Stellung und Einstufung innerhalb der Gruppe der Schwächeparasiten einzuräumen.

Zusammenfassung

Durch Infektionsversuche an isolierten Pappelabschnitten sollte geklärt werden, welchen Einfluß die Temperatur und der Wassergehalt der Pappel auf ihre Krankheitsanfälligkeit gegenüber *Dothichiza populea* haben.

1. Die Krankheitsanfälligkeit der Pappel wird durch eine Abnahme der Turgeszenz der Rindenzellen gefördert. Bei einer Temperatur von 20° C erreichen 1 cm dicke Pappelabschnitte die Schwelle ihrer Krankheitsbereitschaft gegenüber *Dothichiza* bei einem Wasserverlust von 10 % des Gesamtwassergehaltes; die Infektionsschwelle von *Cytospora chrysosperma* liegt demgegenüber bei einem Wasserverlust von 20 %.

2. In gleicher Weise läßt sich ein „positiver" Infektionserfolg auch dann erzielen, wenn die Temperatur auf 8 bzw. 4° C erniedrigt wird. Da unter diesen Bedingungen auch saftfrische Pappelabschnitte erkranken, dürfte der Zustand der Wassersättigung als Resistenzfaktor demnach keine allgemeine Gültigkeit besitzen.

Es konnte gezeigt werden, daß sich die Wirkungsweise beider Faktoren, der Feuchtigkeit und der Temperatur, innerhalb des Temperaturbereiches von 4 bis 23° C gegenseitig verstärken, abschwächen oder gegenseitig aufheben kann. Den größten Ausschlag gibt hierbei derjenige Faktor, der im Minimum vorliegt, dessen Veränderung also den größeren Einfluß auf das Krankheitsgeschehen hat.

3. Mikroskopische Befunde lassen eine Beziehung zwischen der Ausbildung eines Wundperiderms und dem Infektionserfolg erkennen. Sowohl eine stärkere Verholzung von Zellmembranen als auch die Bildung von Korkschichten führen zu einer Ausbreitungsresistenz gegenüber *Dothichiza populea*. Da die Wundperidermbildung andererseits durch den Temperatur- und Wasserfaktor bestimmt wird, ergibt sich schließlich ein Zusammenhang zwischen diesen Umweltfaktoren, dem Reaktionsvermögen der Pflanze und ihrer Krankheitsanfälligkeit.

4. Bei der Besiedlung der Pappelrinde breitet sich der Pilz zunächst auf intrazellulärem Wege aus. Die Geschwindigkeit der Ausbreitung wird hierbei durch den Wassergehalt bestimmt. Die Erkrankung des Gewebes wird durch toxisch wirkende Stoffwechselprodukte des Pilzes ausgelöst, die den vordringenden Hyphen vorausdiffundieren. Der Pilz gehört demnach zu den Perthophyten.

5. Die Ergebnisse der Infektionsversuche werden mit den im Freiland durchgeführten Untersuchungen anderer Autoren verglichen und die Stellung des Rindenbranderregers als „Schwächeparasit" bzw. „Saisonparasit" besprochen.

Literaturverzeichnis

Butin, H., 1955: Über den Einfluß des Wassergehaltes der Pappel auf ihre Resistenz gegenüber *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. Phytopath. Z. **24**, 245—264.

Cartwright, K., 1929: A satisfactory method of staining fungal mycelium in wood sections. Ann. Bot. **43**, 1—2.

Delacroix, G., 1903: Sur le parasitisme de *Dothichiza populea* Sacc. et Briard sur diverses espèces de Peupliers. Bull. Soc. Mycol. France **19**, 353—355.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Verlag Birkhäuser, Basel. 2. Aufl.

Haberlandt, G., 1923: Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Beitr. allg. Bot. **2**, 1.

Hedgcock, G. G., and Hunt, U. R., 1916: *Dothichiza populea* in the United States. Mycologia **8**, 300—308.

Hermann, G., 1956: Beiträge zur Physiologie von *Dothichiza populea* Sacc. et Br. und *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. im Hinblick auf deren parasitisches Verhalten. Diss. Göttingen.

Klebahn, H., 1938: Untersuchungen über *Chondroplea populea* (*Dothichiza populea* Sacc. et Br.). Z. Pflanzenkrkht. **47**, 38—52.

Künemund, A., 1932: Die Entstehung verholzter Lamellen, untersucht besonders an *Salix alba*. Bot. Arch. **34**, 462—521.

Müller, R., 1953: Zur Frage des Pappelrindentodes. Ergebnisse und Folgerungen aus einem Versuch. Schweiz. Z. Forstwesen Nr. 9 u. 10.

Münch, E., 1929: Über einige Grundbegriffe der Phytopathologie. Z. Pflanzenkrkht. **39**, 276—286.

Raschke, G., 1952: Frühfröste an Pappeln. Holzzucht **13**, 5—6.

Richter, H., 1933: Krebs und Rindenbrand der Pappel. Mitt. Dt. Dendrol. Ges. **45**, 262—267.

Rol, R., 1951: Les hybrides artificiels et les maladies des peupliers aux Etats-Unis. Ber. 5. Sitz. Intern. Pappelkomm. Rom, Dez., p. 25.

Schindler, H., 1931: Kritische Beiträge zur Kenntnis der sogenannten Holzreaktionen. Z. wiss. Mikrosk. **48**, 289—317.

Schmidle, A., 1953: Zur Kenntnis der Biologie und der Pathogenität von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, dem Erreger eines Rindenbrandes der Pappel. Phytopath. Z. **21**, 189—209.

Schönhar, S., 1953: Untersuchungen über die Biologie von *Dothichiza populea* (Erreger des Pappelrindentodes). Forstwiss. Cbl. **72**, p. 358.

— —, 1955: Beiträge zur Biologie von *Dothichiza populea* (Erreger des Pappelrindentodes). Allg. Forstz. **10**, Nr. 40/41.

Struckmeyer, B., and Riker, A. J., 1951: Wound-periderm formation in White-pine trees resistent to blister-rost. Phytopathology **41**, 276—281.

Ter Pelkwijk, A. J., und Brink, G., 1946: Verslag van het onderzoek 1943—1945 en 1946 naar den Populierenkanker. Meded. ned. Heidemaatsch. **2**, 1—21.

Ullrich, J., 1955: Vergleichende Untersuchungen über Verholzung und Verholzungsreaktionen. Ber. Dt. Bot. Ges. **68**, 93—104.

Van Vloten, H., 1938: Het onderzoek naar de vatbarheid van populieren voor aantasting door *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. T. Ned. Heidemaatsch. 1—18.

Zycha, H., 1955: Krankheiten der Pappel. Brühler Pappelvorträge, Schaper, Hannover. 68—77.

Institut de Botanique spéciale de l'Ecole Polytechnique Fédérale à Zurich
Prof. Dr. E. Gäumann

Recherches sur le genre *Didymella* Sacc.

par

Roger Corbaz

avec 10 figures

Table des matières: Introduction. I. Aperçu sur le genre *Didymella* Sacc. a) Historique; b) Position systématique; c) Forme imparfaite; d) Pathologie; e) Détermination du genre; f) Espèces retranchées. II. Recherches sur quelques espèces de *Didymella*. a) Description du genre; b) Matériel et méthodes de recherches; c) Classification des espèces: 1. *Didymella exigua* (Niessl) Sacc., 2. *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr., 3. *Didymella effusa* (Niessl) Sacc., 4. *Didymella lophospora* (Sacc. et Speg.) Sacc., 5. *Didymella applanata* (Niessl) Sacc., 6. *Didymella lycopersici* Kleb., 7. *Didymella phacae* Corbaz, 8. *Didymella hellebori* (Chaill.) Sacc., 9. *Didymella astragalina* (Rehm.) comb. nov., 10. *Didymella valerianae* nov. spec., 11. *Didymella trifolii* (Fuck.) Sacc., 12. *Didymella pedicularidis* v. Arx, 13. *Didymella inaequalis* nov. spec., 14. *Didymella eupyrena* Sacc., 15. *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc., 16. *Didymella alectorolophi* Rehm, 17. *Didymella macrospora* nov. spec., 18. *Didymella obstruens* nov. spec., 19. *Didymella nigra* nov. spec.; d) Espèces à retirer du genre *Didymella*, 20. *Keissleriella cladophila* (Niessl) comb. nov., 21. *Keissleriella caudata* (Müller) comb. nov. — Conclusion. — Sommaire. — Zusammenfassung. — Références.

Introduction

Le genre *Didymella*, connu depuis longtemps et comptant moultes espèces, s'est révélé, au cours de diverses recherches, comprendre maints Champignons qui lui étaient faussement attribués. Si de nombreux articles ont paru ayant pour objet l'une ou l'autre de ces espèces, aucune révision sérieuse de tout le genre n'a encore été faite. C'est pourquoi une étude approfondie et critique de ce genre nous a paru utile et souhaitable.

Le travail présent comprend l'examen d'une vingtaine parmi les espèces les plus courantes ou les plus caractéristiques. L'accent est porté sur l'observation de matériel récemment récolté, ce qui, en outre, a permis d'isoler les organismes décrits et de les comparer en culture sur un milieu nutritif. Les buts poursuivis sont: 1) chercher les liens existants entre les espèces et leur éventuel groupement selon leurs affinités, 2) établir la position du genre *Didymella* par rapport à ses voisins grâce aux formes intermédiaires, 3) vérifier les relations existant entre les formes parfaites et imparfaites.

Notre travail a été grandement facilité par l'appui efficace de M. le Prof. Gäumann, directeur de l'Institut de botanique spéciale de l'E. P. F., qui ne cessa de s'intéresser à nos recherches et mit à notre disposition les moyens matériels nécessaires à leur réalisation. Nous lui exprimons notre profonde gratitude.

Notre reconnaissance s'adresse aussi tout spécialement à M. E. MÜLLER, conservateur des Herbiers de l'E. P. F., qui, dans le monde multiple et plein d'embûches des Ascomycètes, nous guida sur le chemin scabreux de la taxonomie et nous prodigua avec générosité ses précieux conseils. Nous avons ainsi bénéficié directement de sa large et profonde expérience en ce domaine. Qu'il en soit vivement et sincèrement remercié.

M. P. CRUCHET, à Morges, mit aimablement à notre disposition toute sa collection mycologique de feu son père, M. D. CRUCHET. M. H. FISCHER, Stations fédérales d'essais arboricoles, viticoles et horticoles à Wädenswil, eut l'amabilité de nous faire parvenir des plantes de tomates et des rameaux de framboisiers infectés. Nous leur exprimons nos vifs remerciements.

Nous ne voudrions omettre de remercier encore toutes les personnes de l'Institut de botanique spéciale qui nous ont rendu de signalés services au cours de notre période d'étude.

I. Aperçu sur le genre *Didymella* Sacc.

a) Historique

Didymella fut placé comme sous-genre de *Didymosphaeria* Fuck. en 1878, dans Michelia I, p. 376, par SACCARDO. L'espèce type du sous-genre était *Didymosphaeria exigua* Niessl. (NIESSL 1875). Le même auteur l'éleva au grade de genre en 1882, dans Syll. Fung. 1, p. 545. La liste comprenait déjà 70 espèces et la définition du genre était la suivante: «Périthèces immerses, membranacés, globuleux déprimés, à courte papille, le plus souvent cauligènes. Asques contenant 4—8 spores, accompagnés de paraphyses. Spores ovoïdes à ellipsoïdes, ou allongées, uniseptées, hyalines. Diffère de Sphaerella par la présence de paraphyses et des périthèces généralement plus grands, et diffère de *Didymosphaeria* par des spores toujours hyalines.»

Nous considérons avec von HÖHNEL (1918 a) que *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. est l'espèce type du genre, contrairement à CLEMENTS et SHEAR (1931) et PETRAK (1955 c) qui donnent tous deux *Didymella applanata* (Niessl) Sacc. comme espèce type.

A peine créé, le genre *Didymella* s'est enrichi très vite de nombreuses espèces, si bien que la liste donnée dans SACCARDO (1897) comprend 125 espèces. Une augmentation identique étant enregistrée aussi bien pour les espèces que pour les genres des Ascomycètes, il devint très vite difficile d'obtenir une vue générale.

b) Position systématique

Plusieurs systématiciens tentèrent d'établir des groupes naturels; dans cet ordre d'idée, NANNFELDT (1932) divise les Euascomycètes en 3 groupes: les Plectascales, les Asconyméniales et les Ascoloculares, qui comprennent eux les formes ascostromatiques. Parmi les Pseudosphaeriales, une des 4 séries de ces derniers, nous retrouvons le genre *Didymella* Sacc. C'est également dans cette série, et parmi la famille des Mycospaerellacées que le place GÄUMANN (1949).

Le terme pseudosphaerial s'est enrichi au cours des travaux de LUTTRELL (1951) d'un nouveau caractère. En effet LUTTRELL porta tout spécialement son attention sur la structure de l'asque, créant les deux types fondamentaux : bituniqués et unituniqués. Le caractère bituniqué de l'asque des formes pseudosphaeriales n'avait toutefois pas échappé à MÜLLER et VON ARX (1950) qui relèvent que tous les Pseudosphaeriales s'accordent sur un point, à savoir une paroi épaisse, composée à vrai dire de deux membranes. Le genre *Didymella* est typiquement de la série pseudosphaeriale, c'est-à-dire que la copulation sexuelle se déroule à l'intérieur du stromata végétatif; il en résulte des ascogones, des hyphes ascogènes puis des asques; ceux-ci sont bituniqués.

A l'intérieur de la série des Pseudosphaeriales, un système naturel a été proposé par MÜLLER et VON ARX (1950) en tenant compte en première ligne de la forme et du développement de la phase sexuelle, soit de la position, des caractères de l'asque et des ascospores, et en deuxième ligne seulement de la structure du stroma, de ses éléments et de sa situation par rapport au substrat lui servant de support.

Le genre *Didymella* se rattache au type *Wettsteinina*, considéré comme un type primitif d'où s'élancent plusieurs branches d'évolution, celle des *Leptosphaeria*, celle des *Pleospora*, des *Didymosphaeria*, celle des *Mycosphaerella*, les *Dothideacées*, celle des *Venturia-Gibbera*. Les *Mycosphaerellaceae* — cf. VON ARX (1949) — comprenant plusieurs genres, se laissent rattacher au type primitif par l'intermédiaire de *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johanson. A partir de cette espèce-ci dérivent des *Didymella*, par exemple *Didymella exigua* (Niessl) Sacc., *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr. Il en résulte que les deux genres *Mycosphaerella* (Fries) Johanson et *Didymella* Sacc. sont très proches l'un de l'autre. Ce fait a déjà été souligné par PETRAK (1923) qui considère les deux genres voisins comme appartenant à une même branche de l'évolution. VON ARX (1949) mentionne la difficulté de séparer les deux genres et MÜLLER et VON ARX (1950) soulignent leur parenté et même considèrent que le genre *Didymella* Sacc. peut être rattaché au genre *Mycosphaerella* (Fries) Johanson, section *Didymellina* (v. Höhn.) v. Arx.

Les caractères utilisés pour distinguer les deux genres sont reportés dans le tableau ci-dessous:

Mycosphaerella	*Didymella*
coussinet basal ascogène bien marqué, convexe.	coussinet basal étendu sur tout le fond de la cavité perithéciale, remontant contre les parois latérales.
asques réunis en buisson.	asques parallèles.
ascospores peu constrictées, cylindriques, fusoïdes, relativement étroites par rapport à la longueur.	ascospores nettement constrictées à la septation, plutôt ovales ou clavatées, relativement larges.
fructifications petites.	fructifications plutôt grandes.
sans paraphysoïdes.	avec paraphysoïdes.

Il ressort de cette confrontation des caractères qu'aucune limite ne peut être tracée entre les deux genres. Discutant ces critères, MÜLLER et VON ARX (1950) reconnaissent leur relativité et donnent la priorité à la forme des ascospores. Si dans les cas extrêmes, c'est-à-dire lorsque nous avons affaire à des espèces typiques de *Didymella* et de *Mycophaerella,* toutes les différences sus-mentionnées sont présentes, par contre dans les nombreuses espèces intermédiaires il est bien difficile de se faire une opinion. L'apparence du coussinet basal est dépendante de l'observation, de la coupe à travers la fructification; de même pour la position des asques. Nous l'avons nous-même expérimenté avec *Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr. D'autre part LUC (1953) a décrit et illustré sous le nom de *Mycosphaerella zeicola* Stout une espèce dont les asques prennent naissance sur tout le fond du périthèce, sont parallèles et cylindriques. Il est vrai que les périthèces des *Mycosphaerella* dépassent rarement 200 μ, mais il existe aussi des espèces de *Didymella* dont les fructifications restent inférieures à ces données et parmi elles, l'espèce type: *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. La présence de restes de tissu paraphysoïde dépend surtout du stade d'évolution et de maturité du champignon observé; il faut en outre noter que les paraphysoïdes sont difficilement visibles, étant donné leur finesse et leur transparence. Rien d'étonnant donc que certains champignons aient été transférés de l'un des genres à l'autre au gré des humeurs taxonomiques. Citons les exemples de *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr. qui a pour synonyme *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) Stone, *Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr. connu jusqu'en 1940 sous le nom de *Didymella superflua* (Auersw.) Sacc.

Nous avons trouvé un autre critère pouvant distinguer les deux genres: la forme auxiliaire.

c) Forme imparfaite

Par des essais de culture portant sur plusieurs espèces de *Mycosphaerella,* KLEBAHN (1918) a établi avec certitude, et d'autres après lui, VON ARX (1949) par exemple, les formes imparfaites de *Mycosphaerella:*

Ovularia Sacc.
Ramularia Unger
Cercospora Fres.
Cercosporella Sacc., tous des Hyphomycètes
Septoria Fr., la forme pycnidienne
Asteromella Pass. et Thüm., la forme microconidienne.

Les recherches effectuées avec des espèces de *Didymella* dans ce domaine sont peu nombreuses; elles s'accordent en général à reconnaître le genre *Ascochyta* Lib. comme forme imparfaite du genre *Didymella* Sacc.

Ces relations ont été prouvées pour les espèces suivantes:

Didymella pinodes (Berk. et Blox.) Petr. et *Ascochyta pisi* Lib. (cf. STONE, 1912)

Didymella Rabiei Kovachevsky et *Ascochyta Rabiei* (Pass.) Labrousse (cf. LABROUSSE, 1931)

Didymella lycopersici Kleb. et *Diplodina lycopersici* Hollòs (cf. KLEBAHN, 1921)
Didymella exitialis (Mor.) Müller et *Ascochyta sorghi* Sacc. (cf. MÜLLER, 1952)
Didymella Vodakii Müller et *Ascochyta Vodakii* Bub. (cf. MÜLLER, 1953)
Didymella phacae Corbaz et *Ascochyta* sp. (cf. CORBAZ, 1955).

Ascochyta Lib. (Michelia I, p. 161) est un genre de champignon imparfait appartenant aux Sphaeropsideae, ce qui signifie que les spores sont formées à l'intérieur de pycnidies, et à la section Hyalodidymae Sacc., c'est-à-dire que les spores sont elliptiques, ovales ou allongées, munies d'une cloison, donc bicellulaires, hyalines ou jaune-vert. Les fructifications se trouvent le plus souvent sur des taches nécrotiques, sur les feuilles comme sur les tiges. ALLESCHER (RABENHORST, 1901) afin de distinguer le genre *Ascochyta* Lib. de *Diplodina* West. choisit un critère aussi simple qu'artificiel: ceux croissant sur les tiges sont appelés *Diplodina,* ceux poussant sur les feuilles *Ascochyta.* Dans son «System der Fungi Imperfecti» VON HÖHNEL (1923) sépare les deux genres d'après la structure des pycnidies. PETRAK (1925) considère les 2 genres comme synonymes. Ajoutons que l'espèce type est *Ascochyta pisi* Lib. et que les spores sont formées par étrangulation d'une cellule du fond de la pycnidie; de ce fait il n'y a pas de conidiophores allongés et bien visibles.

L'extrême variabilité des pycnidiospores tant dans leur forme, dans leur teinte que dans leurs dimensions peut prêter à confusion. Quoique typiquement bicellulaires à maturité, elles sont à des stades plus jeunes unicellulaires dans des proportions allant jusqu'à 90 %. Citons à ce sujet les recherches faites par LABROUSSE (1931).

Tout d'abord l'auteur donne le nom de *Phyllosticta Rabiei* aux pycnidiospores trouvées sur le pois chiche; puis, ayant trouvé quelques spores bicellulaires, dans la proportion de 2—4 %, *Ascochyta Rabiei.* Il ajoute: «Les différences systématiques entre les genres *Phyllosticta* et *Ascochyta* sont si artificielles que la position d'une espèce dans l'un ou l'autre genre est une question d'appréciation personnelle.»

Si l'on retient d'autre part que les limites entre les genres *Phoma* Fries et *Phyllosticta* Pers. sont plus qu'incertaines et qu'elles ont donné lieu à de nombreux commentaires (cf. DENNIS, 1946), on comprendra mieux la difficulté de déterminer les formes imparfaites, non seulement de leur trouver le nom d'une espèce mais encore le genre où les classer. C'est pourquoi nous préférons nous abstenir de donner un nom, le danger d'établir des synonymes étant bien trop grand. En effet les espèces de *Phoma,* de *Phyllosticta,* d'*Ascochyta* se comptent par centaines; pour *Phoma* seulement, SHEAR (1923) donne le chiffre de 1700. Seul un travail de longue haleine pourrait apporter quelque clarté et réduire considérablement le nombre des représentants de ces genres. Ceci d'autant plus que les plantes hôtes ne sont point du tout spécifiques; ainsi WOLLENWEBER et HOCHAPFEL (1936), traitant ce sujet du point de vue parasitaire, ont obtenu avec *Ascochyta lycopersici* (Cke) Brun. des pourritures sur des pommes, des poires et des citrons. Outre la présence d'une septation chez les pycnidiospores, aucune différence essentielle n'existe entre *Phoma* et *Ascochyta.* Chez l'un et l'autre de ces genres, les spores sont

formées selon le même principe, illustré entre autre pour 5 espèces de *Phoma* et 2 espèces d'*Ascochyta* par WOLLENWEBER et HOCHAPFEL (1936), pour *Ascochyta pisi* Lib. par VIENNOT-BOURGIN (1949).

d) Pathologie

Pour les phytopatologues, l'espèce la plus répandue et la plus connue est sans doute *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr. causant l'anthracnose du pois, et dont la liste des plantes hôtes est donnée plus loin. Les folioles, les tiges et les gousses étant susceptibles d'être envahies, les dommages causés peuvent être élevés. VIENNOT-BOURGIN (1949) a observé la destruction presque totale des cultures de pois destinés à la semence dans la région parisienne en 1927.

Didymella applanata (Niessl) Sacc. provoque un dessèchement des rameaux de framboisier (*Rubus idaeus* L.). Cette maladie est connue dans une grande partie de l'Europe, ainsi qu'aux Etats-Unis et en Australie. Les dégâts causés par ce champignon varient suivant les pays: peu importants en France, élevés en Grande-Bretagne et en Ecosse, des plus grands en Tasmanie (selon NICHOLLS 1925).

Didymella lycopersici Kleb. attaque les cultures de tomates; les tiges sont recouvertes de taches noires dans la région du collet, l'épiderme se craquelle, l'écorce s'exfolie partiellement, tandis que les tissus durs s'infléchissent du côté médullaire: c'est le chancre des tomates. *Didymella lycopersici* Kleb. est un parasite peu répandu.

e) Détermination du genre

Parmi les Pseudosphaeriales nous trouvons d'autres genres à spores bicellulaires offrant donc une ressemblance plus ou moins grande avec le genre *Didymella* Sacc.

Didymosphaeria Fuck. est reconnaissable aux spores colorées en brun. Bien qu'ayant des ressemblances morphologiques avec le genre *Didymella* Sacc., sa position doit être recherchée dans une autre branche d'évolution, celle partant de *Wettsteinina* v. Höhn. et aboutissant à *Massariella* Speg.

Scirrhia Nke. et *Omphalospora* Th. et Syd. font partie des Dothideacées; selon MÜLLER et VON ARX (1950) ils dérivent tous deux de *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johan. ce qui permet d'établir une parenté avec le genre *Didymella. Scirrhia* Nke. s'en distingue parfaitement par la présence de stroma bien développé; les fructifications ne sont plus alors que des loges (loculi) (cf. MÜLLER et VON ARX 1950, fig. 22).

Chez *Omphalospora* Th. et Syd. le stroma est plus réduit mais les spores ont tendence à devenir apiospores.

Les Venturiacées représentent également une branche d'évolution parallèle à celle des *Mycosphaerellacées;* mais les spores sont colorées, très légèrement verdâtres au début, puis vert olive à maturité.

Notons encore que le genre *Mycosphaerellopsis* v. Höhn., créé par von Höhnel (1918 c) a été reconnu comme synonyme de *Didymella* Sacc. par Petrak (1923), puis comme synonyme de *Mycosphaerella* (Fries) Johan. par von Arx (1949).

f) Espèces retranchées

Parmi les espèces décrites par Saccardo plusieurs d'entr'elles n'étaient pas à leur place dans le genre *Didymella.* Elles ont alors été ou rapportées à des genres connus, ou prises comme espèce type de genres nouveaux. C'est ainsi que von Höhnel (1919 a) le premier, créa pour *Didymella praeclara* Rehm le genre *Lejosphaerella* v. Höhn., qui appartient aux Sphaeriacées. La même année il établit le genre *Haplotheciella* v. Höhn. pour *Didymella hellebori* (Chaill.) Sacc. (von Höhnel, 1919 c). Ce changement était injustifié et le nouveau genre déclaré superflu par Petrak (1925). *Didymella fenestrans* (Duby) Sacc. fut retiré du genre *Didymella* par Petrak (1923) et pris comme espèce type d'un genre nouveau *Sydowiella* Petr. *Sydowiella fenestrans* (Duby) Petr. est du type diaporthal, avec asque muni d'un anneau apical non colorable avec une solution iodique. Un nouveau genre fut également créé pour *Didymella tosta* (Berk. et Br.) Sacc., à savoir *Paradidymella* Petr. par le même auteur en 1927, Ann. Myc, **25,** p. 238. Les asques de cette espèce sont pourvus d'un appareil apical, qui se colore en bleu avec la solution de Lugol. La structure du périthèce comme celle de l'asque permet de ranger cette espèce parmi les Sphaeriacées où Petrak la classa et non parmi les Diaporthales, comme le pense Munk (1953). La forme imparfaite en est *Discosia Passerinii* Sacc. (cf. Müller et Corbaz, 1956). Plus récemment Petrak (1955) plaça *Didymella vexata* Sacc. dans un nouveau genre, *Pseudomassariella* Petr.

Au cours de divers travaux, les espèces suivantes ont été retranchées du genre *Didymella:*

Didymella Barbieri (West.) Sacc. = *Metasphaeria sepincola* (Berk. et Br.) Sacc. var. *Barbieri* (West.) v. Höhn. [von Höhnel, 1909].

Didymella cadubriae Sacc. = *Metasphaeria cadubriae* (Sacc.) Petr. [Petrak, 1923].

Didymella confertissima Sacc. = *Montagnella minor* (Speg.) v. Höhn [von Höhnel, 1911].

Didymella corni Sacc. = *Pseudomassaria corni* (Sow.) v. Arx [von Arx, 1952].

Didymella Fuckeliana (Pass.) Sacc. = *Didymella tosta* (Berk. et Br.) Sacc. [von Höhnel, 1917] = *Paradidymella tosta* (Berk. et Br.) Petr. [Petrak, 1925].

Didymella pusilla (Niessl) Sacc. = *Mycosphaerella Tassiana* (de Not) Johan. [von Arx, 1949].

Didymella nivalis Berl. & Voglino = *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johan. [von Arx, 1949].

Didymella sambucina Rehm = *Keissleriella sambucina* (Rehm) v. Höhn. [von Höhnel, 1919].

Didymella sepincolaeformis (de Not.) Sacc. = *Pseudomassaria sepincolaeformis* (de Not.) v. Arx [von Arx, 1952].

Didymella sphaerelloides Sacc. = *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johan. [von Arx, 1949].

Didymella superflua (Auersw.) Sacc. = *Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr. [Petrak, 1940].

II. Recherches sur quelques espèces de *Didymella*

a) Description du genre

Didymella Sacc.

Syll. fung. **1**, 545 (1882).

Espèce type: *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. (cf. p. 386).

Synonyme: *Haplotheciella* v. Höhn. — Fragmente zur Mycologie No 1187 (1919) (cf. p. 381).

Diagnose du genre: Périthèces solitaires, immerses ou plus ou moins érumpants à maturité, globuleux ou dépressés, ou très aplatis, sans stroma bien développé. Ostiole papilliforme ou en col cylindrique glabre. Asques bituniqués, cylindriques, très faiblement pédicellés, arrondis au sommet, octosporés. Spores bicellulaires, hyalines, distichées, septées soit au milieu, soit au-dessous, très rarement au-dessus, ovoïdes à elliptiques, constrictées. Paraphysoïdes hyalines, filiformes, simples.

Forme imparfaite: du type *Ascochyta* Lib. ou *Phoma* Fr. ne faisant que très rarement défaut.

b) Matériel et méthodes de recherches

L'étude des espèces décrites ci-dessous est basée sur l'examen de matériel d'herbier et de matériel fraîchement recueilli, ce qui a permis d'isoler en culture pure chaque espèce, à l'exception de *Didymella hellebori* (Chaill.) Sacc.

Le milieu nutritif couramment utilisé est la gélose maltée à 2 %. L'observation du mode de croissance plus rapide que celle des Mycosphaerella, de la formation de pigments, de la morphologie des colonies, nous a démontré l'extrême variabilité des organismes, fait également observé sur le matériel d'herbier. Si, fraîchement isolée, la même espèce offre un aspect constant, après une longue période de culture, divers types apparaissent; l'expérience suivante le montre clairement: on dépose au centre de plaques de Pétri contenant le milieu gélosé un peu de mycélium ayant fait un stage de 2 mois à la température de + 3 ° C. Chaque espèce montre alors une croissance en plusieurs secteurs, les uns formant des pycnidies, les autres avec du mycélium stérile avec ou sans pigment, solubles, colorés ou non (cf. fig. 1). Lors de repiquages ultérieurs ces différents caractères se maintiennent, et il est alors possible d'obtenir diverses formes de la même espèce. C'est pourquoi nous pensons inutile de joindre à la diagnose habituelle une description de l'organisme en culture.

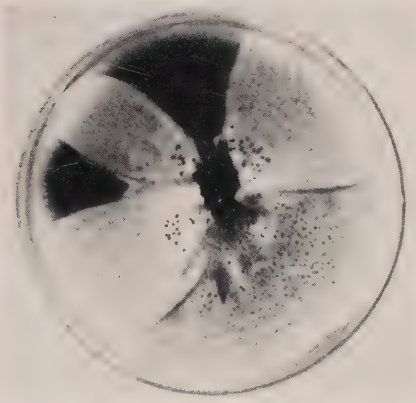


Fig. 1. Formation de secteurs chez *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr., Souche E. P. F. 2594, sur gélose maltée, Réd. 9 : 5

Outre la gélose maltée, d'autres milieux nutritifs ont servi à la culture: gélose additionnée de pomme de terre, (recette dans LEVINE et SCHOENLEIN, 1930), gélose glucosée (id) et paille de blé préalablement stérilisée. Nous n'avons dénoté la présence de périthèces sur aucun de ces milieux; par contre la formation de pycnidies est générale, surtout au début de la culture en milieu artificiel. Seules quelques espèces croissant sur paille et ayant hiverné en plein air (Erlenmeyer de 250 et 500 ml) ont livré des périthèces au printemps. Pour l'une d'entr'elles *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc., des souches issues d'une seule ascospore ont également formé des périthèces; on peut en déduire que cette espèce-ci du moins, sinon le genre, est homothallique.

c) Classification des espèces

L'examen des différents échantillons a révélé l'importance primordiale de la forme et des dimensions des ascospores en tant que caractère spécifique. Toutes les mesures ont été effectués dans l'acide lactique, 3 jours après la préparation.

Le genre *Didymella* peut être divisé en 3 groupes principaux: le groupe *Didymella exigua*, le groupe *Didymella eupyrena*, le groupe *Didymella applanata*. Mais ces groupes ne se laissent pas nettement différencier les uns des autres; aucune cloison étanche ne les sépare et aucune définition raisonnable ne le pourrait; de sorte qu'il nous est impossible d'élever ces groupes au rang de sous-genre.

Pour dénommer chacune de ces divisions, nous avons choisi le nom de l'espèce la plus représentative et connue de tout un chacun. Il s'agit de rassembler les espèces qui offrent des traits communs autour d'un seul vocable, afin de faciliter la vue d'ensemble.

Groupe *Didymella exigua*

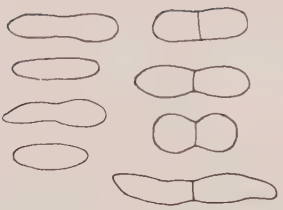
Les caractères des espèces appartenant au premier groupe sont: périthèces globuleux, petits, ne dépassant pas 200 μ, en général 160—180 μ, immerses, ostiole papilliforme, érumpant à maturité, paroi périthéciale mince, asques peu nombreux, courts, 45—60 μ, et relativement épais. Spores septées au milieu.

Ce groupe est homogène et se rapproche beaucoup du groupe *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johan.; il se compose de

Didymella exigua (Niessl) Sacc.
Didymella pinodes (Berk. et Blox.) Petr.
Didymella lophospora (Sacc. et Speg.) Sacc.
Didymella effusa (Niessl) Sacc.

Groupe *Didymella eupyrena*

A l'opposé, les espèces du groupe *Didymella eupyrena* offrent un tout autre aspect: périthèces déprimés à très aplatis, dépassant 250 μ et pouvant atteindre 450 μ, érumpants entièrement à maturité, surmontés d'un col cylindrique; les spores ont tendance à être septées au-dessous du milieu.



L'espèce représentant le mieux ce groupe est *Didymella eupyrena* Sacc.En font en outre partie:

Didymella alectorolophi Rehm
Didymella vincetoxici (de Not.) Sacc.

Fig. 2. Variations des pycnidiospores chez *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc., souche E.P.F. No 641 A, issue d'une seule ascospore. Culture sur gélose maltée. Agr. 1000×

Groupe *Didymella applanata*

Entre ces deux extrêmes s'intercale un troisième groupe de transition, partant de formes semblables à *Didymella exigua* pour se rapprocher de *Didymella eupyrena.* Les périthèces sont globuleux-dépressés, tout d'abord immerses puis partiellement érumpants à maturité; l'ostiole varie de papilliforme à col cylindrique, parfois à l'intérieur d'une même espèce [cf. *Didymella trifolii* (Fuck.) Sacc.]. Le groupe comprend:

Didymella applanata (Niessl) Sacc.
Didymella lycopersici Kleb.
Didymella phacae Corbaz
Didymella hellebori (Chaill.) Sacc.
Didymella astragalina (Rehm) nov. comb.
Didymella valerianae nov. spec.
Didymella trifolii (Fuck.) Sacc.
Didymella pedicularidis v. Arx
Didymella inaequalis nov. spec.

Les 2 dernières espèces mentionnées sont très proches du groupe *Didymella eupyrena.*

La division en trois groupes n'a d'autre fin que de mieux permettre de saisir l'ensemble des caractères et d'obtenir une vue générale. Toute systématique est construction de l'esprit humain, donc sujette aux erreurs. Nous sommes conscient de son caractère trop délimitatif. En effet, si le groupe *Didymella exigua* paraît homogène et bien limité, il est plus difficile de marquer une frontière entre les groupes applanata et eupyrena. Par contre cette division en groupe souligne deux tendances qui cheminent parallèlement: les périthèces de globuleux, petits, enfoncés dans le substrat et avec ouverture papillaire deviennent aplatis, grands, érumpants, surmontés d'un col cylindrique, et les spores septées tout d'abord au milieu, voire au-dessus [cf. *Didymella phacae* Corbaz], le sont par la suite au tiers inférieur. S'écartant de ces 3 groupes et par conséquent précieuses pour rechercher les rapports avec d'autres genres, 3 espèces sont décrites. *Didymella macrospora* nov. spec. dont la structure des fructifications et surtout les dimensions et formes des ascospores laissent penser que cette espèce dérive de *Wettsteinina* v. Höhn. *Didymella obstruens* nov. spec. est une cryptoforme, parasite d'un *Leptosphaeria. Didymella nigra* se caractérise par un très faible et particulier stroma rappelant celui d'*Omphalospora himanita* (Pers.) Th. et Syd.

La clé de détermination suivante a été établie pour les espèces décrites dans ce travail; elle a été construite sur le principe des 3 groupes décrits ci-dessus et sur la forme et les dimensions des spores.

1.–	Périthèces entourés d'un faible stroma, spores 10–12 × 4–5 μ	*Didymella nigra*
1 *	Périthèces sans stroma	2
2.–	Cryptoforme, spores 15–18 × 6–7 μ	*Didymella obtruans*
2 *	Non parasite d'un autre ascomycète	3
3.–	Périthèces immerses, globuleux, à ouverture papilliforme, ne dépassant pa 200 μ de diam.	5
3 *	Périthèces d'un autre type	4
4.–	Périthèces entièrement érumpants à maturité, env. 300 μ diam. ou plus	8
4 *	Périthèces différents	10
5.–	Spores droites	6
5 *	Spores recourbées en croissant de lune	7
6.–	Spores formées de deux cellules globuleuses à maturité, larges; parasitant les Légumineuses	*Didymella pinodes*
6 *	Spores plus étroites, cellule antérieure en ogive	*Didymella exigua*
7.–	Spores en majorité recourbées, périthèces 160–180 × 125–170 μ	*Didymella effusa*
7 *	Spores en partie recourbées, périthèces plus petits, 120–160 × 80–120 μ	*Didymella lophospora*
8.–	Spores septées au milieu, périthèces pouvant dépasser 400 μ	*Didymella vincetoxici*
8 *	Spores septées au 1/3 inférieur	9
9.–	Spores en forme de semelle, cellule antérieure arrondie au sommet	*Didymella eupyrena*
9 *	Cellule antérieure piriforme, pointue à l'extrémité	*Didymella alectorolophi*
10.–	Spores septées au-dessous du milieu	11
10 *	Spores septées au milieu ou légèrement au-dessus	15
11.–	Spores septées au 1/3 inférieur	12
11 *	Spores septées légèrement au-dessous du milieu	13
12.–	Spores grandes, 23–29 × 10–12 μ	*Didymella macrospora*
12 *	Spores petites, 15–17 × 6–7 μ	*Didymella inaequalis*
13.–	Spores dépassant 20 μ	*Didymella pedicularidis*
13 *	Spores inférieures à 20 μ	14
14.–	Cellule antérieure des spores nettement plus large que la postérieure	*Didymella trifolii*
14 *	Les deux cellules sont de la même largeur	*Didymella valerianae*
15.–	Spores septées légèrement au-dessus du milieu	*Didymella phacae*
15 *	Spores septées au milieu	16
16.–	Spores inférieures à 15 μ	*Didymella astragalina*
16 *	Spores supérieures à 15 μ	17
17.–	Spores dépassant 20 μ	*Didymella hellebori*
17 *	Spores entre 16–18 μ	18
18.–	Périthèces érumpants en partie à maturité	*Didymella applanata*
18 *	Périthèces immerses à maturité	*Didymella lycopersici*

a. Groupe *Didymella exigua*

Le premier groupe comprend 4 espèces, toutes proches les unes des autres, caractérisées par de petits périthèces immerses et par un ostiole papillaire.

1. *Didymella exigua* (Niessl) Sacc.

Souche E. P. F. No 462

Synonymes:

Didymosphaeria exigua Niessl — Oester. Bot. Zeitschr. **25**, 165 (1875).
Didymella exigua (Niessl) Sacc. — Syll. **1**, 553 (1882).

Les périthèces sont entièrement immergés, à croissance subépidermale, globuleux ou peu dépressés, 100—140 μ; la paroi périthéciale est mince, claire à la base et se fonçant vers le sommet pour devenir brune vers l'ostiole, formée de cellules polyédriques mesurant 10—11 μ. L'ouverture est papilliforme environ 20 μ de diam. Les asques claviformes à cylindriques, sessiles ou avec un léger pédicelle, octosporés, se répartissent sur toute la couche basale; ils mesurent 45—50 $\times$ 10—12 μ. Les spores bicellulaires, distichées, hyalines, septées au milieu et constrictées sont généralement droites; leurs dimensions: 14—18 $\times$ 4,5—6 μ. De nombreuses paraphysoïdes hyalines et filiformes recouvrent les asques (cf. fig. 3).

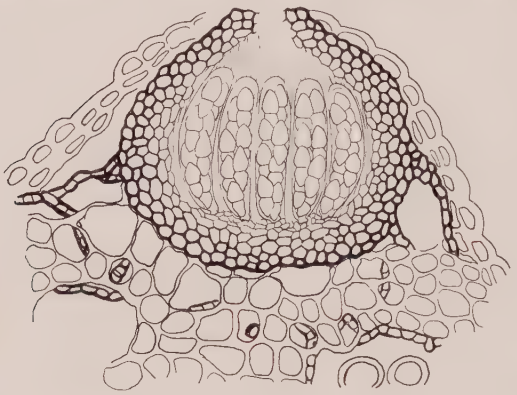


Fig. 3. Coupe à travers un périthèce de *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. Agr. 330×

Matériel examiné: Sur les tiges et les feuilles mortes de *Rumex arifolius* All. récoltées à Mémise sur Thollon, Savoie, France, par M. CH. TERRIER le 27. 9. 1953.

Forme imparfaite: Sur le matériel examiné, des pycnidies semblables aux périthèces quant aux dimensions et à la structure voisinent avec les formes parfaites. En culture pure les mêmes pycnidies ont été observées; les spores sont cylindriques ou en forme de bâtonnet, hyalines, unicellulaires rarement bicellulaires, 9—13 $\times$ 4—6 μ. Il s'agit d'une espèce d'*Ascochyta*, probablement décrite sous le nom de *Phoma*, vu le petit nombre de pycnospores bicellulaires.

Dans les cultures sur paille ayant hiverné en plein air et inoculées avec une suspension de pycnospores, on a trouvé côte à côte les formes parfaites et imparfaites, les périthèces étant à maturité en mai.

Selon diverses données, cette espèce se rencontre sur les tiges sèches de *Verbena officinalis* L., *Dipsacus* sp., *Stenactis annua* Nees (= *Erigeron annuus* L.), *Hypericum Androsaceum* L. Un échantillon de l'herbier de l'E. P. F. donne pour hôte *Rumex Acetosa* L. (champignon déterminé par PETRAK), un autre *Scrophularia nodosa* L. Dans l'herbier de M. CRUCHET, ce *Didymella* croit sur *Melittis Melissophylum* L. et dans un échantillon du Royal Botanic Garden Kew, sur *Atropa Belladona* L. C'est dire que cette espèce est très répandue et polyphage.

Des essais d'infection sur diverses espèces de *Rumex* (*Rumex acetosa* L., *Rumex alpinus* L., *Rumex arifolius* All., *Rumex sanguineus* L. et *Rumex scutatus* L.) effectués avec une suspension de pycnidiospores en mai et en

juin 1954 ont montré que cette espèce parasite aussi bien les tiges que les feuilles, provoquant de grandes taches rougeâtres, au centre desquelles on a trouvé tant des périthèces que des pycnidies. Isolées en retour, les cultures sur géloses étaient semblables aux souches mères.

Il faut relever combien cette espèce est proche de *Mycosphaerella Tassiana* (de Not) Johan. et rien n'empêcherait sa classification parmi la section *Didymellina* (v. Höhn.) v. Arx. Près de *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. il convient de placer *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr., *Didymella effusa* (Niessl) Sacc. et *Didymella lophospora* (Sacc. et Speg.) Sacc., toutes espèces ayant de grandes affinités entre elles et que nous désignons sous le vocable collectif de groupe *Didymella exigua.*

2. *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr.

Souches E. P. F. No 557 et 2594

Synonymes:

Sphaeria pinodes Berk. et Blox. — dans Berkley et Brome: Ann. and Mag. Nat. Hist. 3 ser. **7**, No 981 (1861).
Sphaerella pinodes Niessl — dans Rabenhorst-Winter: Fungi Eur. No 1947 (1875).
Mycosphaerella pinodes Stone — Ann. myc. **10**, 581 (1912).
Didymellina pinodes v. Höhn. — Ann. myc. **16**, 67 (1918).
Didymella pinodes Petr. — Ann. myc. **22**, 16 (1924).
Mycosphaerella lethalis Stone. — Ann. myc. **10**, 587 (1912).
Didymella obscura Rehm. — Ann. myc. **8**, 300 (1910).
Sphaerella viciae Schroet. — Nord. Pilze, p. 10 (1890).

Les périthèces sont très nombreux, dispersés, toujours solitaires, globuleux 100—130 × 80—100 μ, brun-clair, enfoncés dans le substrat; l'ostiole papillaire, environ 20 μ diam., est érumpant. La paroi périthèciale est mince, 10—15 μ, formée de cellules polyédriques aplaties, 10—12 × 4—5 μ. Les asques peu nombreux, cylindriques, courts et relativement épais, 45—60 × 12—15 μ, ne sont que faiblement pédicellés. Les ascospores sont distichées, hyalines, bicellulaires, septées au milieu, constrictées à la cloison, droites, aux extrémités obtues et arrondies surtout dans un stade de maturité avancée, 14—17 × 5—6,5 μ. Peu ou pas de paraphysoïdes.

Matériel examiné: Sur les tiges sèches de *Melilotus* sp., recueillies à La Conversion sur Pully, Vaud, le 3. 1. 1955.

Forme imparfaite: Les tiges récoltées sont couvertes de fructifications appartenant toutes à l'espèce décrite; quelques pycnides sont groupées à la base des rameaux secondaires, plus grosses (120—190 × 80—120 μ) et plus foncées que les périthèces si bien qu'elles sont reconnaissables à l'oeil nu. Leur structure est celle des périthèces. Les pycnidiospores sont pour la plupart unicellulaires, parfois bicellulaires, hyalines, en forme de bâtonnet, plus ou moins arrondis aux extrémités, 7—14 × 2—3 μ.

En culture sur gélose maltée les pycnidies sont nombreuses, plus grandes, atteignant jusqu'à 300 μ de diamètre. Les spores sont très variables dans la forme et les dimensions, généralement bicellulaires, septées au milieu ou en dessous, étranglées ou non à la cloison, hyalines, 11—18 × 2—3 μ. Il s'agit d'*Ascochyta pisi* Lib. que Stone (1912) et Vaughan (1913) ont considéré comme la forme pycnidienne de *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr.

Cette relation ne fait aucun doute, car en culture sur paille et après hivernage nous avons obtenu des périthèces à maturité au début de mai, alors que les mêmes cultures n'offraient que des pycnidies deux mois auparavant.

JONES (1927) se basant sur l'aspect des cultures, la dimension des spores et les symptômes observés lors des essais d'infection, distingue 3 espèces d'*Ascochyta: Ascochyta pinodes* (Berk. et Blox.) Jones, *Ascochyta pinodella* Jones et *Ascochyta pisi* Lib. Nos observations à ce sujet ne nous permettent pas d'adopter ce point de vue. La variation des pycnospores est en effet si considérable, qu'une différenciation ayant les dimensions comme base est une erreur. Quant aux différents aspects des cultures, la fig. 1 permet de se persuader de la facilité avec laquelle une espèce varie. D'autre part BAUMANN (1954) a démontré l'existence de plusieurs races physiologiques parmi *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr. Nous considérons donc que la forme imparfaite est *Ascochyta pisi* Lib., *Ascochyta pinodes* (Berk. et Blox.) Jones et *Ascochyta pinodella* Jones tombant en synonymie.

Des essais d'infection furent entrepris en été 1955; ils ont été menés parallèlement en serre et en plein air, sur toute une série de Légumineuses afin de déterminer quelles sont les plantes-hôtes. A l'aide d'un vaporisateur nous avons aspergé les plantes d'une suspension de pycnidiospores; des blessures n'ont été faites que sur *Melilotus albus* Desr. En serre l'humidité est gardée très élevée pendant les 3 jours suivant l'infection. La tabelle ci-dessous donne les résultats; + signifie *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr. observé sur la plante et isolé en retour sur milieu nutritif, o indique l'absence du Champignon.

Astragulus glycyphyllus L.	+	*Ononis repens* L.	⊙
Galega officinalis L.	+	*Ononis Natrix* L.	○
Hippocrepis comosa L.	○	*Pisum sativum* L. Sorte Konservenkönigin	+
Lathyrus odoratus L.	⊙	*Vicia sepium* L.	+
Melilotus albus Desr.	+		
Melilotus officinalis (L.) Lamb.	+		

Il faut relever le fait suivant: sur les tiges de *Melilotus* aspergées d'une suspension de pycnidiospores apparaissent des taches noires, isolées les unes des autres et peu nombreuses. L'examen microscopique révèle la présence de pycnidies et de spores. Sur des rameaux préalablement blessés, coupure ou prélèvement de l'épiderme, l'infection est notablement plus forte; de nombreuses pycnidies recouvrent la tige, leur densité atteignant le maximum à l'endroit de la blessure. A cette place, elles forment une croûte noirâtre, d'où le Champignon peut facilement être isolé en retour. Les infections sur *Pisum sativum* L. eurent un succès inespéré, favorisées qu'elles furent par les conditions climatiques extérieures. Feuilles, tiges et gousses furent recouvertes de pycnidies. Ces résultats concordent avec ceux de BAUMANN (1954) qui donnent comme hôtes de *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr.: *Pisum, Vicia, Lupinus,* et même *Zea Mays.*

REHM (1910) a décrit un *Didymella* trouvé sur *Melilotus albus* Desr. sous le nom de *Didymella obscura* Rehm. Les données de la diagnose concordent si bien avec celles de *Didymella pinodes* qu'il ne fait aucun doute que ces deux espèces n'en soient qu'une seule. STONE (1912) trouva également

un ascomycète sur *Melilotus albus* Desr. qu'il considéra différent de *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) Stone et qu'il baptisa *Mycosphaerella lethalis* Stone. Les raisons motivant une différenciation des deux espèces ne résistent pas à un examen précis; et nous avons montré que des infections sur *Pisum sativum* peuvent être obtenues en inoculant l'organisme trouvé sur *Meliotus*, résultat contraire à celui énoncé par Stone (1912).

Par la suite nous avons recueilli une autre souche quelque peu différente mais que nous jugeons appartenir malgré ces écarts à *Didymella pinodes*. Il s'agit de la souche E. P. F. No 2594, trouvée sur les tiges sèches de *Psoralea bituminosa* L. à Fontan, Alpes Maritimes, France, le 26. 6. 1955. Les périthèces sont plus grands, 130—200 × 110—150 μ, à croissance également subépidermale; la paroi est homogène, 25 μ d'épaisseur, formée de cellules isodiamétriques, brunes, 5—7 μ. Comme pour la souche précédente, il n'y a pas de coussinet basal, mais une couche répandue sur tout le fond du périthèce, d'où s'élèvent les asques. Ces derniers, comme les ascospores, ont les dimensions données ci-dessus. Par contre les paraphysoïdes sont bien reconnaissables, hyalines, droites, filiformes et non ramifiées.

Forme imparfaite: Les tiges de *Psoralea* sont recouvertes de pycnidies, parmi lesquelles se trouvent les périthèces beaucoup plus rares. Elles ont la même structure et les mêmes dimensions que les périthèces; les spores sont bicellulaires, tout d'abord hyalines, souvent teintées de brun. En culture pure, 7 jours après avoir isolé le Champignon, la surface du milieu nutritif était couverte de pycnidies foncées, dont les spores parfois unicellulaires, fréquemment hyalines ou légèrement brunâtres, 9—16 × 3—5 μ, étaient identiques à celles observées sur les tiges.

3. *Didymella effusa* (Niessl) Sacc.

Souche E. P. F. No 593

Synonymes:

Didymosphaeria effusa Niessl — Neue Kernp. 130 (1875).
Didymella effusa Sacc. — Syll. 1, 552 (1882).
Didymella sambucina Feltg. — Vorstud. Pilz. Luxemb. Nachtr. III, 252 (1903).

Périthèces isolés, par place très nombreux et serrés les uns contre les autres, globuleux, brun-foncé, 160—180 × 125—170 μ, à croissance subépidermale; ostiole papillaire, percé d'un pore de 25 μ de diam. La paroi est mince, 25 μ, formée de petites cellules, 5 × 5 μ, entremêlées de plus grandes, 10 × 6 μ. Les asques sont peu nombreux, 6 sur un même front, cylindriques, 45—60 × 11—13 μ, légèrement pédicellés, octosporés. Les ascospores sont hyalines, bicellulaires et septées au milieu, recourbées en forme de croissant, 15—17 × 4,5—6 μ. Paraphysoïdes hyalines, filiformes. De nombreuses hyphes partent du périthèce et s'étendent sous la cuticule, sans former néanmoins un stroma, car elles restent bien séparées les unes des autres.

Matériel examiné: Sur les rameaux secs de *Sambucus Ebulus* L., Zollikon ZH, 20. 5. 1955 Leg. Müller et Corbaz.

Forme imparfaite: Sur gélose maltée quelques pycnidies se forment, contenant des spores hyalines, en forme de bâtonnet, ou ovales, très variables dans leurs dimensions, 5—10 × 2—3,5 μ. Après un stage de

deux mois à la température de + 4 °C plusieurs spores sont bicellulaires, septées au milieu légèrement brunes et plus larges, 5—10 × 5—7 μ. Sur les tiges de *Sambucus Ebulus* L. nous n'avons pas aperçu de pycnidies.

Sur *Sambucus* une deuxième espèce, *Didymella sambucina*, a été décrite à deux reprises comme nouvelle: en 1903 par FELTGEN et en 1907 par REHM. Si, dans la première diagnose les dimensions des périthèces ne concordent pas, par contre la description des ascospores ainsi que leur dimensions laissent supposer qu'il s'agit de *Didymella effusa* (Niessl) Sacc. La diagnose de REHM, très courte ne permet pas une comparaison complète avec *Didymella effusa* (Niessl) Sacc. et *Didymella sambucina* Feltg. C'est ainsi que les dimensions données par REHM pour les périthèces et les asques sont beaucoup plus conséquentes que celles données par SACCARDO (1882); celles des spores par contre concordent, mais il ne mentionne pas qu'elles sont recourbées en croissant, fait déjà signalé par SACCARDO (1882). Von HÖHNEL (1919 b) ignorant le travail de FELTGEN (1903) et sans avoir examiné le matériel recueilli par REHM (1907), d'ailleurs introuvable, mais se basant sur un champignon qu'il avait récolté sur le même hôte, classa l'espèce *sambucina* dans un autre genre, *Keissleriella*, créé à cette occasion avec comme espèce type *Keissleriella aesculi* v. Höhn. Or il est peu probable que les champignons examinés par les deux auteurs soient les mêmes. En effet, REHM parle de périthèces percés d'un pore distinct, alors que von HÖHNEL décrit un long canal garni de grands poils noirs. Aucune dimension et description des ascospores ne sont données.

En résumé, selon les règles de nomenclature, *Didymella sambucina* Feltg. seule pourrait subsister. Selon la diagnose et dans l'impossibilité d'examiner le matériel original, cette espèce doit être considérée comme synonyme de *Didymella effusa* (Niessl) Sacc.

4. *Didymella lophospora* (Sacc. et Speg.) Sacc.

Souche E. P. F. No 2597

Synonymes:

Didymosphaeria lophospora Sacc. et Speg. — Michelia **1**, 376 (1878).
Didymella lophospora Sacc. — Syll. **1**, 561 (1882).

Périthèces grégaires à subgrégaires immerses, globuleux dépressés, 120—160 × 80—120 μ, munis d'un ostiole papillaire, percé d'un pore de 25 μ de diam.; la paroi est mince, 15—20 μ, composée de cellules polyédriques, brunes à l'extérieur, aplaties et plus claires vers l'intérieur. Les parties voisines de l'ostiole sont les plus foncées. Les asques en nombre restreint, cylindriques, 55—70 × 10—12 μ, contiennent 8 spores, hyalines, bisériées et bicellulaires, septées vers le milieu, nettement constrictées, pour la plupart recourbées, 15—18 × 5—7 μ. Paraphysoïdes rares filiformes, hyalines, 2 μ d'épaisseur.

Matériel examiné: Sur tiges sèches de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, récoltées à Tende, Alpes Maritimes, France, le 25. 6. 1955.

Forme imparfaite: Sur gélose maltée les pycnidies sont très rapidement formées. Les spores sont extrêmement variables, allant de la forme ovale à celle de bâtonnet, unicellulaires tout d'abord, bicellulaires par la

suite, souvent renflées aux deux extrémités, constrictées vers le milieu ou non. Des formes abérantes, telles que cylindres allongés et appointis aux deux bouts, septées au milieu, ne sont pas rares. Les dimensions varient de 4 × 3 μ, pour les petites spores unicellulaires, jusqu'à 23 × 4 μ pour les grandes bicellulaires. Les spores sont expulsées des pycnidies sous forme de masse rose apparaissant au sommet des fructifications. Après avoir été entreposées dans un local à température constante de + 3 ° C pendant deux mois, des cultures sur gélose maltée forment outre les pycnidiospores décrites, des microconidies hyalines, bacillaires, mesurant 1—2 μ. Ces dernières prennent naissance à l'intérieur de grandes fructifications globuleuses, 250 × 230 μ, à paroi mince, 15 μ, ne se distinguant pas des pycnidies habituelles. Aucun conidiophore n'a été aperçu, et les spores sont formées par bourgeonnement des cellules de la strate basale.

Cette espèce est très proche de *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. Elle ne s'en différencie que par des périthèces plus grands et surtout par la forme des spores. La différence des 2 espèces est soulignée par la forme auxiliaire.

β. Groupe *Didymella applanata*

Ce deuxième groupe n'est pas aussi bien défini que le premier; c'est un groupe de transition entre les deux extrêmes, représentés par *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. et *Didymella eupyrena* Sacc. On y remarque la tendance à s'écarter de plus en plus du type primitif, soit fructification globuleuses et ouverture papillaire, spores septées au milieu, pour se rapprocher du type *Didymella eupyrena* Sacc., périthèces aplatis, surmontés d'un col cylindrique, spores septées au tiers inférieur.

5. *Didymella applanata* (Niessl) Sacc.

Souche E. P. F. No 554

Synonymes:

Didymosphaeria applanata Niessl — Oester. Bot. Ztschr. **25**, 129 (1875).
Didymella applanata Sacc. — Syll. **1**, 546 (1882).
Sphaerella rubina Peck — 48th Ann. Rpt. of the N. Y. State Museum, Part **1**, 114 (1894).
Mycosphaerella rubina Jacz. — in Stevens, Plant disease fungi, 172 (1925).

Les périthèces sont généralement grégaires, formant de grandes taches blanchâtres dues au décollement des tissus superficiels, à croissance subépidermale, mais érumpants à maturité, globuleux à subglobuleux, brun-foncé à noirs, 180—250 × 140—180 μ. L'ostiole est papilliforme, émergeant toujours à la surface. La paroi d'une épaisseur de 18—20 μ, est composée de cellules polyédriques, brunes, à membrane épaisse, mesurant 6—7 μ. Les asques sont cylindriques, bituniqués, sans pédicelle marqué ou subsessiles, arrondis au sommet, 55—65 × 9—11 μ; les spores, au nombre de 8, sont distichées, hyalines, bicellulaires, septées au milieu ou légèrement en dessous, constrictées, la cellule antérieure étant plus large que l'inférieure, 15—18 × 5,5—7 μ. Les paraphysoïdes sont simples, filiformes, hyalines.

Matériel examiné: Tiges et rameaux de *Rubus idaeus* L. Station fédérale d'essais viticoles et arboricoles, Wädenswil, 20. 7. 1954.

Forme imparfaite: La souche que nous avons isolée et celle provenant des collections de Baarn (Hollande) forment toutes deux des

pycnidies en culture sur paille. Les pycnidiospores sont hyalines en bâtonnet, mesurant 3—8 × 2—3,5 μ; elles sont du type Phoma. Les mêmes cultures ayant hiverné à l'extérieur ont livré à côté des pycnidies mentionnées des périthèces mûrs au début de mai. La maladie ayant été décrite et illustrée excellemment par KOCH (1931) et BARTHELET (1935) nous ne reviendrons pas sur ce chapitre. Nous soulignerons que nos observations concordent parfaitement avec celles de KOCH, en particulier que la forme imparfaite de *Didymella applanata* (Niessl) Sacc. est une espèce de Phoma, que les périthèces sont formés au printemps et à maturité dès le mois de mai, la propagation de l'organisme pendant l'été étant due aux pycnidies. Cette espèce est la seule qui pousse sur une plante lignifiée, toutes les autres se trouvent sur des plantes annuelles.

6. *Didymella lycopersici* Kleb.

Souches E. P. F. No 541 et 553

Zeitschr. Pflanzenkr. **31**, 13 (1921).

Nous n'avons pu étudier cette espèce que dans sa forme imparfaite, le matériel en herbier et celui aimablement fourni par M. FISCHER, Stations Fédérales d'essais viticoles, arboricoles et horticoles à Wädenswil, ne comprenant que des pycnidies. Une description détaillée a été donnée par KLEBAHN (1921) qui a prouvé par des essais de culture que la forme auxiliaire de *Didymella lycopersici* Kleb. est un *Ascochyta*. En effet, partant de conidies, il a obtenu des périthèces dans des cultures pures ayant hiverné en plein air; les périthèces étaient à maturité à fin avril. Nous avons isolé, à partir du matériel sus-mentionné, le champignon dans sa forme imparfaite. Mais dans les cultures sur paille ayant hiverné en plein air, nous ne fûmes pas aussi heureux que KLEBAHN et cette souche ne forma aucun périthèce. D'ailleurs les mêmes essais effectués avec une souche obtenue de Baarn (C. B. S., souche E. P. F. No 553) donnèrent également des résultats négatifs. L'observation des pycnidies formées chez les deux souches sur gélose au malt et sur paille nous montra la grande variabilité des pycnidiospores tant dans leur forme que dans leurs dimensions. Dans la même culture se trouvent des spores hyalines petites, unicellulaires, cylindriques, effilées, 5 × 2 μ, et de plus grandes en bâtonnet, hyalines et unicellulaires, 11 × 3 μ, des bicellulaires septées au milieu, fortement constrictées ou pas du tout, étroites (10 × 3 μ) ou arrondies (9 × 4,5 μ). Nous avons même observé des spores globuleuses, hyalines, de 2 μ de diam. s'écartant passablement du type primitif. La proportion des spores bicellulaires et unicellulaires est en relation non seulement avec le degré de maturité mais aussi selon la provenance. C'est ainsi que la souche de Baarn ne fournit que quelques rares spores bicellulaires, alors qu'elles sont en majorité dans notre souche.

Il est compréhensible qu'une telle variabilité entraîne plusieurs descriptions du même organisme. PETRAK (1921) établit la liste des synonymes et garda comme seul nom valable *Diplodina destructiva* (Plowr.) Petr. Comme le même auteur (PETRAK 1925 b) considère avec raison que *Diplodina* n'est qu'un synonyme d'*Ascochyta*, la forme imparfaite de *Didymella lycopersici*

Kleb. doit se nommer *Ascochyta destructiva*. Doivent être considérés comme synonymes certains:

Phoma destructiva Plowr. — Gard. Chron. **16**, 621 (1881).
Diplodina destructiva Petr. — Ann. Myc. **19**, 19 (1921).
Ascochyta lycopersici Brun. — Bull. Soc. Bot. Fr. **34**, 430 (1887).
Diplodina lycopersici Hollòs. — Ann. mus. nat. Hung. 461 (1907).

Il existe probablement d'autres synonymes, d'autant plus que l'espèce en question ne serait pas spécialisée sur les plantes de tomates. Le fait signalé par KLEBAHN (1921) que le parasite peut pénétrer directement dans les cellules de l'épiderme par activité enzymatique conduisit LIESAU (1933) à étudier la biologie de ce champignon. Par des essais d'infection il établit avec certitude que *Didymella lycopersici* Kleb. peut parasiter *Solanum nigrum* L., *Nicandra physalodes* (L.) Gärtner, *Atropa Belladonna* L. et *Physalis Franchetii* Mast. Or sur ces plantes on connaît de nombreux Imparfaits des genres *Ascochyta, Diplodina* et *Phoma,* respectivement: *Ascochyta solanicola* Oud. et *Ascochyta Solani-Nigri* Diedicke, *Ascochyta physalina* Sacc. et *Ascochyta physalicola* Oud., *Diplodina Physalidis* Hollòs, *Phoma Physalidis* Hollòs, *Ascochyta Atropae* Bres. et *Phoma Atropae* Roum.

LIESAU (1933) signale que, outre les ferments, une toxine de flétrissement est produite en culture sur milieu liquide. Nous avons répété ces essais et les filtrats de cultures âgées de 36 et 50 jours ont provoqué le flétrissement de jeunes tiges de tomate et l'apparition de nécroses marginales sur les feuilles puis de grandes taches intercostales. La méthode utilisée à cet effet est celle employée couramment pour la lycomarasmine exposée par GÄUMANN et al. (1950).

Didymella lycopersici Kleb. semble ne former des périthèces que très rarement, en culture comme dans la nature. En effet les plantes de tomates infectées sont généralement couvertes d'une dense population de pycnidies, mais bien rarement de périthèces. Il est curieux de constater que l'espèce qui lui est le plus proche, *Didymella applanata* (Niessl) Sacc., est également un parasite.

7. *Didymella phacae* Corbaz

Souche E. P. F. No 462
Sydowia **9**, 229—230 (1955).

Les périthèces sont dispersés, à croissance subépidermale, piriformes et fortement aplatis à la base, allongés dans l'axe de la tige qui leur sert de support. Brun-foncé, ils mesurent 250—300 μ. L'ouverture est papillaire, érumpante à maturité. La paroi, épaisse de 25 μ environ, est formée de cellules polyédriques brunes, de 10—12 μ. Les asques sont cylindriques ou claviformes, sessiles ou légèrement pédicellés, à double paroi, mesurant 48—55 $\times$ 9—12 μ; ils contiennent 8 spores disposées sur deux rangs, hyalines, bicellulaires, septées au-dessus du milieu, de sorte que la cellule antérieure est plus courte et plus large que la postérieure. Les ascospores mesurent 11—12 $\times$ 4—5 μ. Les paraphysoides sont filiformes, hyalines.

Matériel examiné: Tiges sèches de *Phaca alpina* L., récoltées à Gabi, Feerberg, Valais, le 10. 6. 1953 par E. MÖLLER.

Forme imparfaite: Sur le milieu nutritif habituel les pycnidies ne sont formées qu'en petit nombre au début, puis plus du tout par la suite. Par contre elles sont nombreuses dans les cultures ayant passé l'hiver dehors. Les pycnidies sont globuleuses, environ 200—300 μ de diamètre, brun-foncé. Les pycnidiospores sont hyalines, en bâtonnets, le plus souvent unicellulaires, mais les bicellulaires ne sont pas rares; leurs dimensions: 7—10 × 2—4 μ. Il s'agit d'une espèce d'*Ascochyta*.

Aucun doute que ce soit là la forme imparfaite de l'ascomycète, car à la fin avril, des pseudothèces ont été trouvés à côté de pycnidies dans des cultures sur paille ayant hiverné en plein air et inoculées avec des pycnidiospores ou du mycélium.

Cette espèce est aisément reconnaissable à la forme des spores et à la septation qui se place au-dessus du milieu. Ce trait que nous interprétons comme primitif est d'ailleurs contrebalancé par la disposition des périthèces aplatis.

8. *Didymella hellebori* (Chaill. ex Fr.) Sacc.

Synonymes:

Sphaeria hellebori Chaillet ex Fries. — Syst. Myc. II, 512 (1823).
Didymella hellebori Sacc. — Syll. 1, 553 (1882).
Haplotheciella hellebori v. Höhn. — Sitzber. Ak. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. 128[1], 615 (1919).
Dothidea Prostii Desm. — Ann. Scienc. nat. 3 e, sér. 8, 175 (1847).

Malgré tous nos efforts, il ne nous a pas été donné de récolter cette espèce nous-même; la connaissance de ce Champignon repose donc sur l'examen des échantillons suivants.

Matériaux examinés: *Sphaeria hellebori* Chaillet de Thümen, Mycotheca universalis No 347.
Didymella hellebori (Chaill.) Sacc. — REHM. Ascomyc. No 892.
Didymosphaeria hellebori (Chaill.) Wint. Herb. CRUCHET, échantillon No 3555.

Sur les différents exemplaires examinés nous avons partout retrouvé le même Champignon, dont voici la diagnose: Périthèces, épars, globuleux à subglobuleux, brun foncé ou carbonacés, rarement coalescents, immerses, à maturité recouverts par la cuticule, 200—240 × 160—180 μ. L'ostiole est papillaire, et seul le pore 30 μ de diam. fait saillie à la surface. La paroi est épaisse, 30—40 μ, constituée de cellules polyédriques et foncées dans les couches externes, aplaties et méandriques dans les couches internes, 13—15 × 9—11 μ. Le périthèce est entouré d'un réseau lâche d'hyphes brunes, nodulées. Les asques sont nombreux, cylindriques, larges, bituniqués, sans pédicelle marqué, sessiles, se terminant dans la couche ascogène par un crochet, l'apex arrondi, 60—70 × 11—14 μ. Les ascospores sont bisériées, hyalines, bicellulaires, cloisonnées au milieu, étranglées vers la septation. La loge antérieure est légèrement piriforme, quelque peu plus large que la postérieure; celle-ci est effilée, parfois tronquée. Le ascospores mesurent 17—20 × 5—7 μ. Les paraphysoïdes sont hyalines, filiformes, simples. Matrix: sur les tiges sèches et mortes d'*Helleborus foetidus* L. et d'*Helleborus viridis* L.

Von Höhnel (1919 c), se basant surtout sur le type de croissance des périthèces, créa le genre *Haplotheciella* v. Höhn. avec comme espèce type *Haplotheciella hellebori* (Chaill.) v. Höhn. Petrak (1925) déclara ce nouveau genre superflu et identique avec *Didymella* Sacc. Après l'étude de cette espèce, nous partageons entièrement l'opinion de Petrak et tenons le genre *Haplotheciella* pour synonyme de *Didymella.*

9. *Didymella astragalina* (Rehm) comb. nov.

Souche E. F. P. No 595

Synonymes:

Sphaeria Bryoniae Fuckel, var. *astragalina* Rehm — Asc. Diagn. No 99 (1871) — Ber. d. Naturh. Ver. Augsb. (1881).

Didymella Bryoniae Rehm, var. *astragalina* Rehm-Winter dans Rabenhorst 1^3, 424 (1887).

Les périthèces sont épars, globuleux déprimés, reposant sur une base plane, immerses, brun foncé, 120—180 × 90—160 μ. L'ostiole est un col cylindrique variant dans la longueur de 20 à 45 μ, percé d'un pore de 20 μ de diam, saillant à la surface. La paroi du périthèce, épaisse de 20—25 μ, est composée de 3—4 couches de cellules grossièrement isodiamétriques petites, 6—8 μ. Les asques sont nombreux, non pas en buisson mais répartis sur toute le couche ascogène, cylindriques, à l'apex arrondi, 45—60 × 10—12 μ, octosporés. Les spores sont bisériées, hyalines, septées au milieu, faiblement étranglées vers la cloison, 13—15 × 6—7 μ. Les paraphysoïdes sont hyalines, simples, fines, environ 1 μ d'épaisseur.

Matériel examiné: Sur les tiges mortes de *Vicia* sp. Follaterres, Valais, 31. 5. 1955.

Forme imparfaite: En culture sur divers milieux nutritifs, le Champignon n'a formé qu'un mycélium végétatif, sans aucune forme auxiliaire, ce qui d'ailleurs constitue la seule exception parmi les vingt espèces. La comparaison avec l'original, récolté et déterminé par Rehm (de Thümen, Mycotheca universalis No 1650) nous a persuadé de l'identité des deux exemplaires. Nous pensons, par ailleurs que ce Champignon ne peut pas être maintenu sous la forme de variété de *Didymella Bryoniae* (Fuck.) Rehm. L'examen de divers échantillons récoltés et déterminés par maints mycologues confirme la diagnose donnée par Fuckel (1869) pour *Sphaerella bryoniae* Fuck. La tabelle suivante met en évidence les différences essentielles entre les 2 espèces:

Didymella bryoniae (Fuck.) Rehm	*Didymella astragalina* (Rehm) comb. nov.
Périthèces: grégaires	épars
ostiole: papillaire	col cylindrique à tronqué
spores: septées au-dessous du milieu	septées au milieu

Didymella astragalina est la première espèce que nous rencontrons avec un ostiole en forme de col cylindrique ou tronqué, qui soit bien développé. En outre la tendance à l'aplatissement des fructifications est déjà marquée. Les spores, elles, sont septées au milieu, larges et font penser, par leur rondeur, aux spores de *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr.

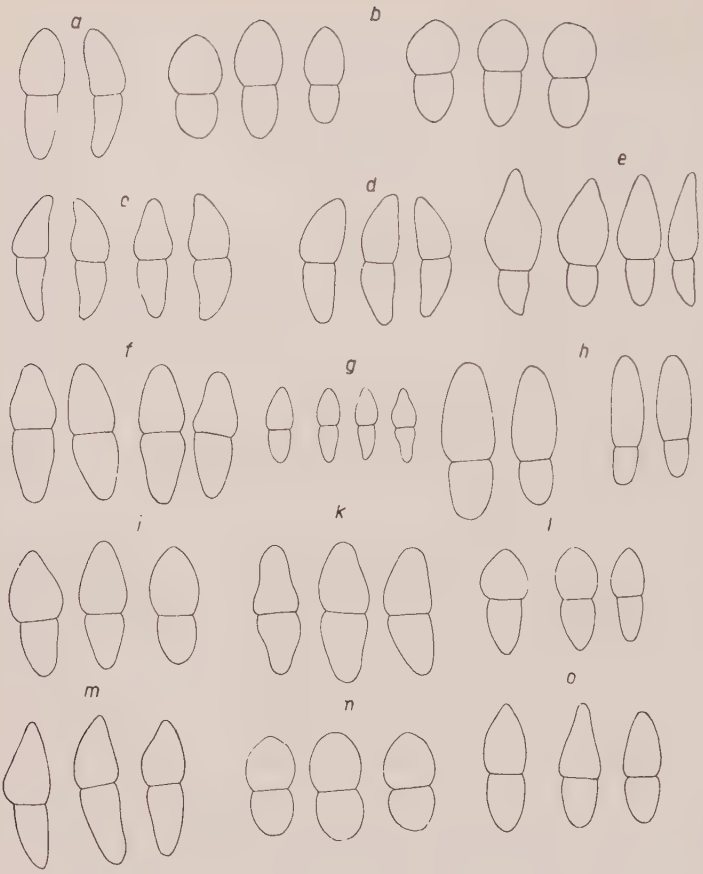


Fig. 4. Ascospores de

a) *Didymella exigua*
b) *Didymella pinodes*, à gauche souche 557 à droite souche 2594
c) *Didymella lophospora*
d) *Didymella effusa*
e) *Didymella alectorolophi*
f) *Didymella vincetoxici*
g) *Mycosphaerella superflua*
h) *Didymella eupyrena*
i) *Didymella applanata*
k) *Didymella lycopersici*
l) *Didymella phacae*
m) *Didymella hellebori*
n) *Didymella astragalina*
o) *Didymella valerianae*

Agr. 1000×

10. *Didymella valerianae* nov. spec.

Souche E. P. F. No 543

Diagnose latine: *Perithecia dispersa, solitaria, nigra, subepidermalia, depresso-globosa 180—230 × 105—140 μ, ostiolo papilliformi, mox plus minus truncato-conico, ca 25 μ alto; pariete 25—30 μ crasso, e cellulis brunneis extus atro-brunneis et parvis, intus tenuiter tunicatis, pallidioribus, polyedricis vel elongatis, 14—23 × 10—12 μ, composito; asci numerosi, cylindracei bitunicati, nodulosum contracti, breve stipitati, antice rotundati, 8-spori; 75—90 × 10—12 μ; sporae distichae, hyalinae, fusoideae, saepe attenuatae plerumque medio raro infra medium septatae constrictae, antice latior 16—18 × 5—7 μ; paraphysoides hyalinae, filiformes.*

Périthèces dispersés, solitaires, noirs, à croissance subépidermale, globuleux fortement dépressés, 180—230 × 105—140 μ; l'ostiole est peu développé, dépassant d'environ 25 μ la courbe du périthèce (cf. fig. 6). La paroi, épaisse de 25—30 μ, est formée de 3—4 couches de cellules, brunes, foncées et petites à l'extérieur, polyédriques ou allongées brun clair vers le centre, 14—23 × 10—12 μ. Les asques sont nombreux, s'élevant de la base du périthèce, cylindriques, se terminant par un renflement en forme de bouton, sans pédicelle accusé, bituniqués, largement arrondis 75—90 × 10—12 μ au

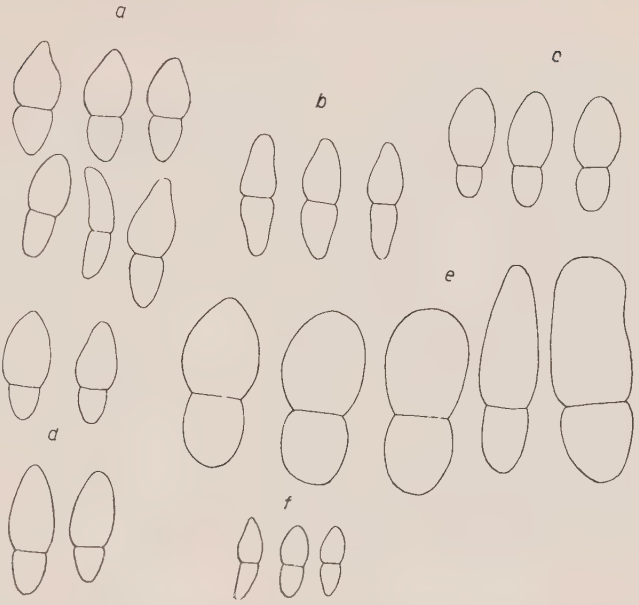


Fig. 5. Ascospores de

a) *Didymella trifolii*
b) *Didymella pedicularidis*
c) *Didymella inaequalis*
d) *Didymella obstruens*
e) *Didymella macrospora*
f) *Didymella nigra*

Agr. 1000×

sommet. Les spores bisériées, hyalines, fusoïdes, bicellulaires, sont septées au milieu ou légèrement en dessous, constrictées, la cellule antérieure plus large, la postérieure plus effilée. Les spores ne sont que peu arrondies aux deux extrémités, souvent appointies, surtout dans l'asque; elles mesurent: 16—18 × 5—7 μ. Paraphysoïdes hyalines, filiformes.

Matériel examiné: Sur les tiges mortes de *Valeriana montana* L. Preda, Grisons. Leg. Corbaz et Müller, 15. 7. 1954.

Forme imparfaite: En culture sur gélose maltée des pycnidies apparaissent à la surface du milieu nutritif; les spores, du type *Phoma*, sont hyalines, unicellulaires, en bâtonnet, 4—11 × 2—3,5 μ. Cultivé sur de la paille, ce *Didymella* forme, à côté des pycnidies, des fructifications qui sont très vraisemblablement des périthèces avortés. Les pycnidies en cultures sont excessivement variables dans leurs dimensions, entre 50 et 200 μ.

Cette espèce par la forme aplatie des périthèces se rapproche de *Didymella pedicularidis* v. Arx.

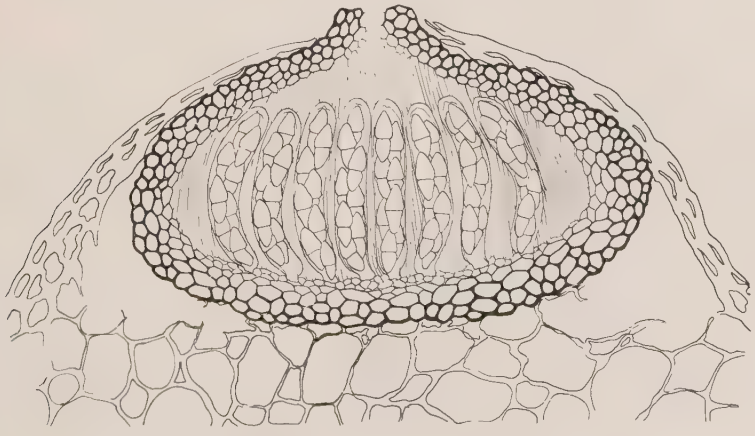


Fig. 6. Coupe à travers un périthèce de *Didymella valerianae* nov. spec. Agr. 330×

11. *Didymella trifolii* (Fuck.) Sacc.

Souche E. P. F. No 599

Synonymes:

Sphaeria trifolii Fuck. — Symb. myc., 112 (1869).

Didymella trifolii Sacc. — Syll. 1, 554—555 (1882).

Les périthèces sont nombreux, isolés ou par groupe de deux, à croissance subépidermale; ils varient quant à leur forme entre deux extrêmes ainsi définis: 1°) globuleux à dépressés, env. 250 μ, ostiole papilliforme 2°) périthèces dépressés ou très aplatis, env. 160 μ, surmontés d'un long ostiole atteignant 60 μ. La paroi est brun-foncé, formée de 4 ou 5 couches de cellules robustes, polyédriques, constantes dans leur forme et leur coloration où qu'elles soient, à l'extérieur ou à l'intérieur de la paroi. Sans transition suit un tissu de petites cellules hyalines, parenchymatiques d'où s'élèvent les asques cylindriques, nombreux, 50—60 × 11—12 μ. Les ascospores sont bisériées, hyalines septées au-dessous du milieu, la cellule antérieure étant plus large et plus longue que la postérieure, dimensions: 15—17 × 5—6,5 μ. Les paraphysoïdes sont nombreuses, filiformes, bien distinctes au-dessus des asques.

Matériel examiné: Sur les tiges sèches de *Medicago sativa* L. Verbier (Valais), 29. 5. 1955, leg. E. MÜLLER et R. CORBAZ.

Forme imparfaite: Sur les tiges de *Medicago sativa* L. nous avons observé des pycnidies nombreuses accompagnant les périthèces, du type *Phoma*, les spores étant unicellulaires pour la plupart.

En culture sur gélose maltée le Champignon forme en abondance des pycnidies contenant les mêmes spores que ci-dessus, soit unicellulaires, hyalines, en bâtonnet, variant entre 4 × 2 μ et 11 × 3 μ.

La description de FUCKEL [1869, p. 112] et celle de SACCARDO [1882, p. 555] donnant les spores comme septées au milieu, nous avons examiné le matériel recueilli par FUCKEL. La souche originale correspond en tous points à la nôtre, les spores également.

Chez cette espèce, la formation d'un ostiole allongé ne paraît pas être une propriété stable. Les deux types de périthèces se rencontrent l'un à côté de l'autre, ce qui exclut une influence du substrat. Il semble donc qu'il faille chercher ce caractère labile dans le Champignon lui-même.

12. *Didymella pediculariдis* v. Arx

Souche E. P. F. No 545

Sydowia 4, 389, 1950.

Les périthèces sont dispersés à subgrégaires, à croissance subépidermale, globuleux-déprimés à elliptiques, légèrement érumpants à maturité, 200—250 × 170—200 μ. L'ostiole est un léger cône, peu marqué, presque papillaire. La paroi périthéciale, 25—35 μ d'épaisseur, est constitutée de 3—4 couches de cellules polyédriques, 23 × 11,5 μ pour les plus grandes, 14 × 7 μ pour les plus petites. Asques nombreux, cylindriques, arrondis au sommet, octosporés, 60—90 × 11—14 μ. Les spores sont bisériées, hyalines, bicellulaires, fusoïdes, septées au milieu ou très légèrement au-dessous, 17—21 × 5—7,5 μ, constrictées, droites. Paraphysoïdes hyalines et filiformes, nombreuses.

Matériel examiné: Sur les tiges mortes de *Pedicularis recutita* L., près du lac de Palpuogna, sur Preda, Grisons, récoltées le 15. 7. 1954.

Forme imparfaite: Sur les tiges infectées, les périthèces voisinent avec des pycnidies contenant des spores hyalines, unicellulaires, 6—9 × 2—4 μ. En culture sur gélose maltée nous avons trouvé de nombreuses pycnidies; les spores, extrêmement variables, sont unicellulaires, allongées en bâtonnet, parfois recourbées, les extrémités arrondies. Leurs dimensions sont comprises entre 6—16 μ pour la longueur, et 3—5 μ pour la largeur. En culture sur paille, les variations sont moins grandes et les formes plus régulières; quelques spores bicellulaires ont été aperçues dans de vieilles cultures.

Comparée à la description de VON ARX (1950) notre souche semble posséder des spores un peu plus petites. Nous n'avons pas non plus aperçu des spores septées au tiers inférieur, comme l'indique l'auteur, pas même sur l'original récolté sur *Pedicularis foliosa* L. VON ARX émet l'hypothèse que la forme imparfaite de cette espèce est *Plenodomus helveticus* Petr. Les dimensions des spores ne semblent pas concorder avec les nôtres, quoique ce trait ne soit pas exclusif. *Didymella pedicularidis* v. Arx marque avec *Didymella inaequalis* nov. spec. la transition entre le type *Didymella applanata* et le type *Didymella eupyrena.*

13. *Didymella inaequalis* nov. spec.

Souche E. P. F. No 558

Diagnose latine: *Perithecia irregulariter dispersa, solitaria vel 2—3 subaggregata subepidermalia, globosa vel depressoglobosa, 200—280 × 160—200 μ, ostiolo truncato-conico, 50—60 μ alto, praedita; pariete 45 μ crasso e cellulis extus minutis, atrobrunneis vel nigris, irregulariter angulosis, 8—10 μ, intus magnis, plus minusve compressis, elongatis, 20 × 10 μ composito; asci cylindracei, bitunicati, breviter stipitati vel subsessiles, antice laxe rotundati, 65—75 × 11—13 μ, 8-spori; sporae distichae, hyalinae, ad 1/3 vel 1/4 septatae, constrictae, loculo superiore majore, elliptico, attenuato, locula inferiore minuto, cylindraceo, obtuso, 15—17 × 6—7 μ.*

Périthèces généralement isolés, parfois en groupe de 2 ou de 3, comprenant une fructification principale, bien développée, entourée d'une ou de deux autres beaucoup plus petites, aplaties latéralement; les périthèces à croissance subépidermale, globuleux, légèrement dépressés, mesurent 200—280 × 160—200 μ; l'ostiole est court, en forme de cône tronqué; la paroi du périthèce est épaisse, env. 45 μ, formée de 5 ou 6 couches de cellules, à l'extérieur petites, 8—10 μ, brun foncé à noir, carrées, à l'intérieur plus grandes, 20 × 10 μ, allongées en rectangle. Sans transition un tissu parenchymatique formé de petites cellules hyalines entoure la base des asques, 65—75 × 11—13 μ, cylindriques, bituniqués, sans pédicelle bien distinct, arrondis au sommet. Les ascospores sont bisériées, hyalines, bicellulaires, septées au tiers, parfois au quart inférieur, constrictées, 15—17 × 6—7 μ. La cellule antérieure est elliptique, pointue à l'extrémité, atteignant le maximum de la largeur vers le milieu; la cellule postérieure est petite, cylindrique, arrondie à l'extrémité (cf. fig. 7).

Matériel récolté: Sur tiges mortes d'*Aconitum lycoctonum* L. St Véran, France, 26. 8. 1954. Leg. E. MÜLLER et R. CORBAZ.

Forme imparfaite: Sur les tiges d'Aconit, à côté de très nombreux périthèces nous avons trouvé des pycnidies possédant la même structure, plus aplaties, 200 × 130 μ. Les spores sont hyalines, unicellulaires, en bâtonnet, 11—13 × 4—5 μ.

Les cultures sur paille et sur gélose maltée ont confirmé les relations existant entre les deux formes de ce champignon. Sur les deux milieux nutritifs, nous avons retrouvé les pycnidies; les spores sont tout d'abord unicellulaires, hyalines, en bâtonnet, renflées aux extrémités, 10—11 × 4—5 μ, par la suite bicellulaires, septées au milieu, plus ou moins constrictées, 14—16 × 4—5 μ. Sur paille des périthèces se formèrent mais ne parvinrent pas à maturité.

Sur le même hôte, nous avons retrouvé cette espèce sur du matériel récolté en 1953 par E. MÜLLER et K. H. RICHLE dans la Vallée des Merveilles, Alpes Maritimes. Cette espèce ne semble donc pas être rare, tout au moins pas dans le sud de la France. Elle se distingue par la forme particulière des spores et leur division en deux cellules très disproportionnées.

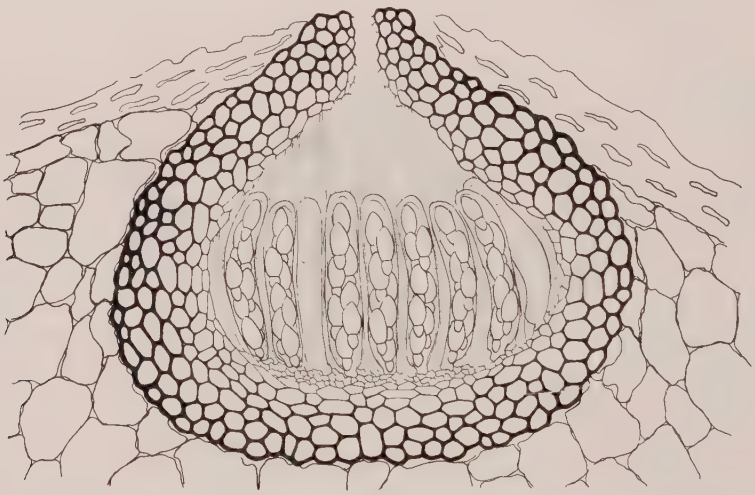


Fig. 7. Coupe à travers un périthèce de *Didymella inaequalis* nov. spec. Agr. 330×

γ. Groupe *Didymella eupyrena*

Le groupe *Didymella eupyrena* comprend les espèces plus évoluées en ce sens qu'elles s'éloignent davantage du type primitif. Les fructifications sont grandes, surmontées d'un col cylindrique ou conique, les spores sont septées au-dessous du milieu, exception faite pour *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc. Ces caractères sont le mieux représentés par *Didymella eupyrena* Sacc., alors que *Didymella alectorolophi* Rehm ne possède qu'un ostiole peu développé mais par contre les périthèces les plus aplatis de tout le genre. Il semble en outre que ces espèces soient moins polyphages que *Didymella*

exigua (Niessl) Sacc. par exemple; *Didymella eupyrena* Sacc. n'est mentionnée que sur *Urtica dioeca* L., *Didymella alectorolophi* Rehm que sur *Rhinanthus Alectorolophus* (Scop) Pollich, *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc. sur *Vincetoxicum officinale* Mönch et *Ononis* sp.

14. *Didymella eupyrena* Sacc.

Souches E. P. F. No 551 et 597

Synonymes:

Didymella eupyrena Sacc. — Michelia **2**, 161 (1880).
Didymella superflua (Auersw.) Sacc. var. *macedonica* Petr. — Ann. myc. **34**, 212 (1936).

Périthèces dispersés, souvent en groupe de 2 ou 3, globuleux dépressés, foncés, 250—290 × 190—230 μ, à croissance subépidermale, à maturité entièrement érumpants; ostiole cylindrique, mesurant 45—50 μ de hauteur sur 45 μ de largeur. La paroi env. 25 μ, s'épaissit à la base du périthèce jusqu'à 45 μ; elle est formée de cellules brunes, polyédriques, 12 × 9 μ; les asques sont nombreux et serrés, cylindriques, allongés, 70—85 × 9—12 μ, octosporés, le sommet arrondi. Les ascospores sont bisériées, hyalines, bicellulaires, septées au 1/3 de la longueur; la cellule antérieure est environ 2 × plus longue et légèrement plus large que l'antérieure. Les deux extrémités sont largement arrondies, et les spores ne sont que faiblement constrictées; leur forme rappelle celle d'une semelle; leurs dimensions: 18—21 × 6—8 μ. Les paraphysoïdes sont hyalines, filiformes.

Matériel examiné: Nous avons isolé cette espèce qui croît sur les tiges mortes d'*Urtica dioeca* L. à deux reprises: orties récoltées à Morteratsch, Grisons, le 17. 7. 1954 et sous Käsern, St-Gall, le 25. 5. 1955. Leg. E. Müller et H. Schüepp.

Forme imparfaite: En culture pure sur gélose maltée et sur paille de nombreuses pycnidies; les spores sont hyalines, cylindriques ou en bâtonnet, pour la plupart unicellulaires. Seule sur gélose maltée, la souche no 551 forma quelques spores bicellulaires. Dimensions: 7—12 × 3—4 μ. Les spores de la souche 597 sont plus grandes, effilées, atteignant 20—23 × 4—5 μ.

Cette espèce est souvent confondue avec un autre Champignon, poussant également sur les tiges mortes d'orties: *Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr. Afin de mieux examiner les différences entre ces deux organismes, nous avons collecté et cultivé cette dernière espèce (E. P. F. Souche No 594). Une excellente description ayant été faite par von Arx (1949) nous nous bornerons à citer quelques divergences: la première, de moindre importance, se rapporte à la dimension des spores; en effet nous avons trouvé des spores plus petites, mesurant 12—15 × 4 μ au lieu de 15—18 × 4—5 μ. Quant à la forme, les spores sont bien celles décrites par von Arx, soit fusoïdes ou clavatées, septées environ au milieu; cellule inférieure plus étroite que la supérieure mais presque aussi longue. Le second point est la forme auxiliaire. Von Arx (1949) a trouvé des conidies du type *Ramularia* et cela fréquemment; par contre il écarte l'hypothèse de Fuckel (1869) reprise par Petrak (1919) selon laquelle la forme auxiliaire serait une espèce de *Phoma*. Pour cela il se base sur le fait que l'espèce de *Phoma*, bien qu'accom-

pagnant le plus souvent les périthèces de *Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr. ont des fructifications d'une structure tout autre. En particulier les pycnidies sont surmontées d'un long ostiole en forme de canal cylindrique pouvant atteindre 300 μ. Nous ne pouvons partager ce point de vue selon lequel les périthèces et les pycnidies devraient avoir la même structure. Si cela est vrai pour certains cas, nous avons rencontré le contraire à maintes reprises, avec *Didymella obstruens* par exemple, et avec *Didymella Vodakii* MÜLLER. Cette dernière espèce, cultivée sur paille, forme en abondance des pycnidies terminées par un ostiole qui peut prendre les formes les plus fantaisistes: généralement un long canal simple et vertical, parfois horizontal et ramifié, atteignant jusqu'à 1 mm de longueur.

Sur les tiges d'orties nous avons également trouvé l'espèce de *Phoma* observé par VON ARX (1949). En culture sur gélose maltée et sur paille de nombreuses pycnidies apparaissent, couvrant toute la surface du milieu nutritif. Des coupes à travers ces fructifications ont montré qu'il s'agissait bien d'un *Phoma;* les pycnidies varient énormément dans leur forme et leurs dimensions; elles sont surmontées d'un ostiole semblable à celui décrit ci-dessus. Les spores sont hyalines, unicellulaires, fusoïdes ou en bâtonnet, mais appointies aux extrémités, 4—7 × 12 μ. Par contre nous n'avons jamais trouvé de conidies du type *Ramularia,* ce qui n'exclut d'ailleurs pas leur relation avec *Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr.

Une certaine confusion ayant régné dans la littérature au sujet de *Didymella eupyrena* Sacc. et *Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr., une tabelle résume les différences pourtant frappantes de ces deux champignons:

	Didymella eupyrena Sacc.	*Mycosphaerella superflua* (Auersw.) Petr.
Périthèces:	250—290 × 190—230 μ	90—150 × 70—120 μ
Ascospores:	18—21 × 6—9 μ septées au 1/3 inférieur de la longueur	12—15 × 4—5 μ septées environ au milieu

Mycosphaerella superflua (Auersw.) Petr. fut tout d'abord décrit sous le nom de *Sphaeria superflua* Auerswald puis *Didymella superflua* (Auersw.) Sacc. Il fut considéré comme *Didymella* jusqu'en 1940, où PETRAK en fit une nouvelle description et le classa dans le genre *Mycosphaerella* sans émettre aucune opinion sur les différences séparant les deux genres.

15. *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc.

Souches E. P. F. No 460 et 461

Synonymes:

Amphisphaeria vincetoxici de Not. — Sf. ital. 72 (1863).
Didymella vincetoxici (de Not.) Sacc. — Syll. **1**, 552 (1882).
Didymella cretica Petr. — Denkschr. Ak. Wiss. Wien **105**, 9 (1943).
Didymella Mutisiana Unam. — Bol. Soc. Espan. Hist. Nat. **32**, 443 (1932).

Souche No 461: Les pseudothèces sont dispersés, à croissance subcuticulaire, entièrement à la surface à maturité. Sphériques avec tendance à s'élargir à la base, ils sont pourvus au sommet d'un col cylindrique ou subconique, d'environ 60 μ de long; ils atteignent 400—450 μ en largeur et

350—400 μ en hauteur. La paroi épaisse de 40—50 μ est formée de cellules polyédriques, mesurant 15—20 μ, aux membranes épaisses et solides à l'extérieur, s'amenuisant vers la cavité pseudothéciale. Les asques, nombreux, cylindriques à claviformes, sont faiblement pédicellés. Le sommet arrondi montre clairement la double structure de la paroi; octosporés, ils mesurent 90—105 × 11—12 μ. Les ascospores sont hyalines, bicellulaires, septées au milieu et légèrement constrictées, les deux cellules étant de même grandeur; dimensions: 16—19 × 5,5—8 μ. Un tissu de paraphysoïdes filiformes recouvre les asques.

Matériel examiné: Sur les tiges sèches de *Vincetoxicum officinale* Mönch, récoltées à Gabi-Simplon, Valais, par M. E. Müller, le 10. 6. 1953.

Forme imparfaite: En culture pure et monospore de nombreuses pycnidies se forment après une dizaine de jours qui expulsent leurs spores en une goutelette rose, apparaissant au sommet de la fructification. Les pycnidiospores sont hyalines, cylindriques, à maturité bicellulaires, sinon unicellulaires, parfois rétrécies vers le milieu, ou composées de 2 cellules dissemblables. Très variables, elles mesurent 10—19 × 3—6 μ. Bien qu' aucune pycnidie n'ait été observée sur ces tiges de *Vincetoxicum officinale* Mönch, il ne fait aucun doute que la forme décrite soit la forme auxiliaire de *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc. En effet en culture sur paille, ayant hiverné dehors, il a été possible de trouver la forme sexuée en grande quantité. Comme forme imparfaite habitant les tiges de cette *Asclépiadacée* on connaît l'*Ascochyta asclepiadearum* Trav. dont la variété macrospora Massal. semble correspondre, quant aux dimensions, à l'organisme décrit ci-dessus (cf. fig. 2).

Cette espèce n'a été mentionnée jusqu'ici que sur *Vincetoxicum officinale* Mönch. Il m'a été permis de trouver cette espèce sur une tige d'*Ononis repens* L. récoltée à Amden. St-Gall, par M. E. Müller (Souche E. P. F. No 460). Les souches isolées à partir de *Vincetoxicum* et d'*Ononis* montrent en culture sur de la gélose maltée des aspects totalement identiques. 100 ascospores de chaque souche ont été mesurées dans les mêmes conditions. Les dimensions concordent parfaitement; la moyenne de la longueur s'élève à 17,9 μ et 17,7 μ pour respectivement souche *Vincetoxicum* et souche *Ononis*. La largeur est de 6,5 μ et 6,0 μ.

Les essais d'infections ont été effectués avec des suspensions de pycnidiospores. Sur *Vincetoxicum officinale* Mönch, l'une et l'autre souches causent des taches rouges sur les tiges saines, taches à partir desquelles il a été possible de réisoler le champignon. Par contre sur *Ononis repens* L. on n'a pu reconnaître les effets d'une aspersion de spores et apparemment aucune infection n'eut lieu. Ainsi tout porte à croire que *Vincetoxicum officinale* Mönch est la plante hôte habituelle et qu'*Ononis repens* L., par exemple, peut devenir l'hôte occasionnel. Bien que le plus souvent trouvé sur *Vincetoxicum officinale* Mönch, *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc. n'est pas restreinte à cette plante, comme l'écrit Holm (1953).

Jusqu'à maintenant deux espèces sont décrites sur *Ononis spinosa* L.: *Didymella Mutisiana* Unam. et *Didymella cretica* Petr. Pour la première

espèce, la brève description ne peut nous donner qu'une image approximative. Les pseudothèces sont beaucoup plus petits (131,4—191,5 × 94,5—162,8 μ) mais les spores concordent parfaitement (17,5—20 × 5,7—6 μ). Le matériel trouvé étant excessivement restreint, il n'est pas possible de comparer cette espèce à la nôtre. Toutefois, après nos expériences, il y a tout lieu de supposer qu'il s'agit de la même espèce et, considérer *Didymella Mutisiana* Unam. comme synonyme. *Didymella cretica* Petr. ayant été reconnu par l'auteur lui-même comme synonyme de *Didymella Mutisiana* Unam. (PETRAK, 1955 a) et la description du Champignon correspondant à la nôtre, il va de soi que cette espèce est identique à *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc. A maintes reprises nous avons récolté *Didymella vincetoxici* (de Not.) Sacc.; cependant nous ne l'avons jamais rencontré en plaine; par contre, à partir d'une certaine altitude, elle est très répandue.

16. *Didymella alectorolophi* Rehm

Souche E. P. F. No 546

Synonymes:

Didymella alectorolophi Rehm — Hedwigia **64**, 294 (1923).
Didymella Ruttneri Petr. — Sydowia **9**, 574 (1955).

Les périthèces sont dispersés, toujours isolés, noirs, elliptiques, allongés dans l'axe de la tige, à croissance subépidermale mais totalement érumpant à maturité, glabres, globuleux, fortement déprimés, ils offrent en coupe transversale l'aspect d'un triangle conique à large base plane. Ils mesurent 250—300 × 140—160 μ. L'ostiole est peu développé, percé d'un pore de 25 μ de diam. La paroi s'écarte passablement du type général rencontré dans le genre *Didymella*. En effet elle n'est pas une enveloppe dont l'épaisseur est plus ou moins constante sur tout le pourtour de la fructification, mais une espèce de stroma limitrophe très variable dans sa structure et son épaisseur. C'est ainsi qu'à la base du périthèce la paroi est mince, environ 20 μ, formée de petites cellules à paroi épaisse et foncée. Le maximum de la largeur, soit 70 μ est atteint à l'endroit où le périthèce se détache du substratum, de sorte que, si le pourtour extérieur de la paroi est un triangle, le pourtour intérieur en est une circonférence. Les cellules de la paroi sont petites et foncées vers la périphérie 8—10 μ, isodiamétriques, celles du centre de la paroi sont plus grandes, 16 × 10 μ, brun clair, puis elles régressent dans leur dimension et leur couleur pour former insensiblement la couche ascogène. Les asques naissent sur tout le fond du périthèce, serrés les uns contre les autres, parallèles, cylindriques; le pédicelle est court, et les asques apparaissent presque sessiles. Leurs dimensions: 55—65 × 8—10 μ. Les ascospores sont hyalines, bicellulaires, constrictées au niveau de la cloison, qui se trouve au-dessous du milieu.

La loge supérieure et nettement plus large, et plus longue que l'inférieure; tout d'abord en flamme de bougie, par la suite ovale. L'inférieure est piriforme, puis en ogive. Les spores mesurent 16—19 × 5—7,5 μ. Les paraphysoïdes sont droites, simples, hyalines.

Matériel examiné: Sur les tiges mortes de *Rhinanthus Alectorolophus* (Scop.) Pollich, Bergün, Grisons, 14. 7. 1954.

Forme imparfaite: En culture pure à partir d'ascospores, de nombreuses pycnidies se forment sur la gélose maltée et sur la paille; elles sont globuleuses, 100—300 μ. Les spores sont unicellulaires, hyalines, en bâtonnet, 5—7 $\times$ 2—3 μ. A côté des pycnidies apparaissent des périthèces qui ne parviennent pas à maturité.

Cette espèce occupe une place isolée dans le genre *Didymella*, quant à l'aspect des périthèces. On peut à ce point de vue la rapprocher de *Didymella pedicularidis* v. Arx et de *Didymella valerianae* nov. spec. Elle s'en distingue pourtant par la forme des spores. Ade (1923) a décrit le premier cette espèce. Il mentionne déjà les caractères principaux: périthèces déprimés, ascospores formées de deux cellules inégales. Petrak (1929) examine l'original, note que le champignon croît en compagnie d'un *Plenodomus*, et rejette cette espèce étant donné que les ascospores ne sont pas mûres. Il pense plutôt avoir sous les yeux un *Leptosphaeria* imparfaitement developpé. En 1955 le même auteur décrit une nouvelle espèce, *Didymella Ruttneri* Petr. trouvée sur des tiges d'*Alectorolophus* spec. Comme il ressort de la diagnose, il s'agit de l'espèce ci-dessus. En effet, les données pour la paroi du périthèce, les dimensions des fructifications, des asques et des spores, de même que leur forme concordent parfaitement. Nous nous croyons donc autorisé à considérer *Didymella Ruttneri* Petr. comme un synonyme de *Didymella alectorolophi* Rehm.

Les trois espèces que nous exposons ci-dessous représentent des formes s'écartant passablement du type général et de ce fait plus difficiles à classer parmi les trois groupes essentiels.

17. *Didymella macrospora* nov. spec.

Souche E. P. F. No 2593

Diagnose latine: *Perithecia irregulariter dispersa, plerumque solitaria, interdum 2-subaggregata, globosa vel depresso-globosa, 160—230 $\times$ 120—160 μ, subepidermalia, mox erumpentia, ostiolo papilliformi, poro rotundato 40 μ diam. perforato, praedita; pariete e cellulis polyedricis saepe compressis atrobrunneis, 6—8 $\times$ 5 μ metientibus composito; asci pauci, manifeste bitunicati, crasse cylindracei, antice late rotundati, 8-spori, 70—90 $\times$ 22—24 μ; sporae distichae, hyalinae, magnae, 23—29 $\times$ 10—11,5 μ, infra medium septatae, constrictae, antice obtusae, postice attenuatae; paraphysoides filiformes, simplices, hyalinae.*

Les périthèces sont isolés, immersés, parfois par groupe de deux, globuleux, légèrement dépressés, 160—230 $\times$ 120—160 μ, à croissance subépidermale. L'ostiole est simple, papilliforme, env. 30 μ diam. La paroi relativement mince, 15—20 μ, est formée de quatre ou cinq couches de cellules petites, brun-foncé, polyédriques, souvent rectangulaires, 6—8 $\times$ 5 μ. Les asques sont grands, larges et pas très nombreux, les deux parois étant bien distinctes sur tout le pourtour de l'asque, cylindriques, arrondis au sommet, 70—90 $\times$ 22—24 μ, le pédicelle est peu marqué, l'assise de l'asque ressemblant à un bouton à pression. Les spores sont bisériées, hyalines, très grandes, 23—29 $\times$ 10—11,5 μ, bicellulaires, septées au tiers de la longueur, les deux

extrémités sont arrondies ou plus ou moins effilées; la cellule antérieure est deux fois plus grande que la postérieure, et peut se déformer soit en cellule fusoïde soit en cellule rectangulaire. Les spores sont toujours constrictées près du septum. Les paraphysoïdes filiformes, hyalines, sont surtout reconnaissables entre l'ostiole et les asques (cf. fig. 8).

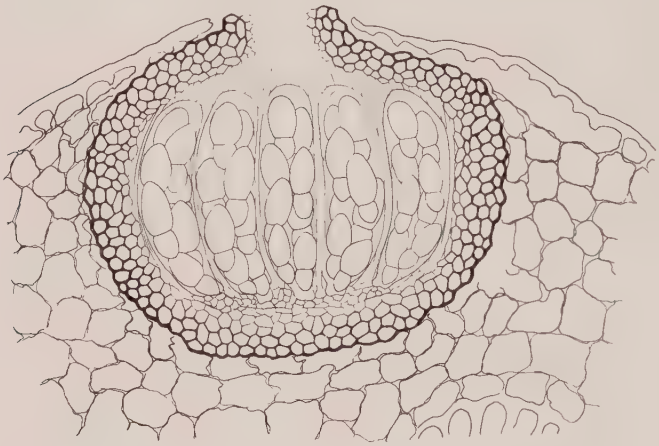


Fig. 8. Coupe à travers un périthèce de *Didymella macrospora* nov. spec. Agr. 330×

Matériel examiné: Sur les tiges sèches de *Lathyrus latifolius* L., Tende (Alpes Maritimes), France, 27. 6. 1955.

Les nom *macrospora* a été choisi pour rappeler les dimensions exceptionelles des spores.

Forme imparfaite: Sur gélose maltée des pycnidies sont formées 6 jours après l'inoculation. Les pycnidiospores sont tout d'abord unicellulaires, hyalines, 8—12 × 3—4 μ, ovales ou en bâtonnet; après 6 jours les bicellulaires sont rares; elles deviennent plus nombreuses par la suite jusqu'à former la majorité après deux semaines. Après un stage de deux mois à la température de 4 ° C nous avons trouvé dans des cultures sur gélose maltée deux sortes de pycnidiospores, les unes petites, unicellulaires, ovales à elliptiques, 2—4 × 15—20 μ, les autres bicellulaires, en bâtonnet ou cylindriques, ou arrondies aux extrémités; 14—18 × 3—5 μ. Quelques-unes de ces dernières présentaient une deuxième septe dans l'une ou l'autre des cellules primitives.

Cette espèce est très facile à distinguer, tant elle se différencie par l'aspect des fructifications, les dimensions de ses asques et de ses ascospores. *Didymella macrospora* occupe une place unique à l'intérieur du genre et ne peut être rapproché que de *Didymella cousiniae* Petr. (Sydowia 3, 277, 1949). Cette dernière espèce, recueillie en Iran, possède également de très grandes spores mais septées au milieu ou légèrement au-dessus.

Par la structure de son périthèce comme par les dimensions des spores, cette espèce rappelle le type primitif, se trouvant à la base des *Mycosphaerellacées*, à savoir *Wettsteinina* v. Höhn.

18. *Didymella obstruens* nov. spec.

Souches E. P. F. No 544 et 600

Diagnose latine: *Perithecia in peritheciis Leptosphaeriae punctoideae Karst. parasitica, eaque plerumque omnino occupantia, numerosa, dispersa, globosa, ostiolum cylindraceum fungi hospitali claudentia, 149—170 × 120—140 μ, parieta 20 μ crasso, e cellulis magnis 15—18 × 7—9 μ*

metientibus brunneis composito praedita, asci numerosi, cylindracei, crasse bitunicati, antice late rotundati, breviter stipitati, 8-spori, 55—70 × 11,5—14 μ; sporae distichae, hyalinae, fusoideae, infra medium septatae, non vel lenissime constrictae, utrinque obtusae, loculo anteriore longiore latioreque 15—18 × 6—7 μ; paraphysoides filiformes, hyalinae, simplices.

Fructifications très nombreuses, dispersées, parasites des périthèces de *Leptosphaeria punctoidea* Karst. Ces dernières sont globuleuses, brun-fonçé, 140—170 × 120—140 μ, surmontées d'un grand ostiole, env. 50 μ sur 50; la base en est fermée par la paroi du périthèce parasite. L'ouverture de ce dernier est papillaire. Pour le reste la paroi du périthèce du *Didymella* se confond avec celle du *Leptosphaeria*, soit une paroi d'environ 20 μ, formée de 2 ou 3 couches de grosses cellules brunes, polyédriques, 15—18 × 7—9 μ. Les asques sont nombreux, cylindriques, courts et larges, bituniques, arrondis au sommet, 55—70 × 11,5—14 μ, octosporés; le pédicelle est court. Les ascospores sont hyalines, bisériées, 15—18 × 6—7 μ, bicellulaires, septées au-dessous du milieu, peu ou pas constrictées. Les deux extrémités sont faiblement arrondies, souvent pointues; la cellule antérieure est plus longue et surtout beaucoup plus large que la postérieure. Les paraphysoïdes sont très fines, hyalines et filiformes (cf. fig. 9).

Matériel examiné: Dans les périthèces de *Leptosphaeria punctoidea* Karst., sur les tiges mortes de *Lathyrus silvester* L., souche E. P. F. No 544 récoltée à Névache, Sud de la France, 14. 6. 1954. Leg. E. Müller. Souche E. P. F. No 600 récoltée à Filisur, Grisons, 11. 6. 1955. Leg. E. Müller.

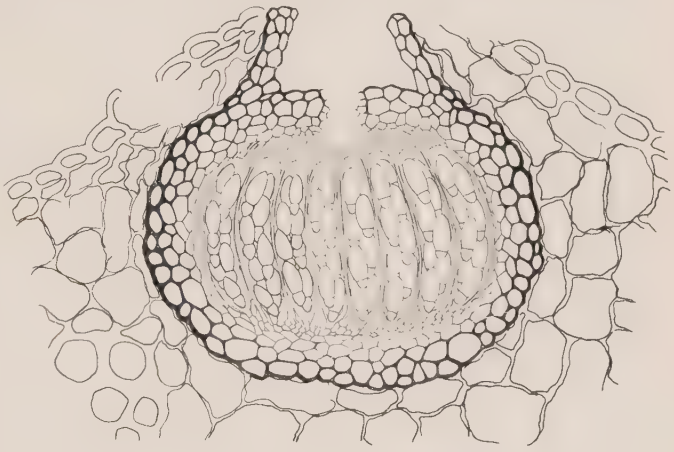


Fig. 9. Coupe à travers un périthèce de *Didymella obstruens* nov. spec. Agr. 330×

Comme l'ostiole du Champignon parasité est complètement bouché par les fructifications de cette espèce, nous l'avons baptisée obstruens.

Sur le matériel recueilli à Névache, toutes les fructifications contenaient des *Didymella*. Intrigué par l'ostiole fermé à sa base, nous avons rassemblé d'autres échantillons et l'explication nous a été fournie par le matériel collecté à Filisur; en effet sur la même tige nous avons trouvé des périthèces du *Leptosphaeria* et du *Didymella*. Une confusion entre les deux organismes n'est pas possible, les spores étant partout à maturité. De nombreuses coupes à travers les périthèces confirment le parasitisme des périthèces de *Leptosphaeria* par *Didymella*. L'ostiole des fructifications de *Leptosphaeria* non parasitées est normal, c'est-à-dire un long canal ouvert (cf. Müller, 1950).

Des cultures pures ont été obtenues sur gélose maltée à partir des deux échantillons. La morphologie et l'aspect des cultures ainsi obtenues sont parfaitement identiques.

Forme imparfaite: En culture sur paille et sur gélose maltée, pycnidies abondantes, très variables, 100—300 μ, globuleuses et surmontées d'un ostiole en forme de long canal, 200—600 μ, visibles à l'oeil nu. Les spores sont hyalines, unicellulaires en bâtonnet ou ovales, souvent irrégulières, renflées à l'une des extrémités; par la suite, les formes se stabilisent, devenant des bâtonnets aux extrémités arrondies, en même temps que le plasma se concentre aux deux extrémités. Dimensions: 11—18 × 3—5 μ.

PETRAK (1947) a déjà décrit une espèce, *Didymella pleosporae* Petr., parasitant les périthèces de *Pleospora Verhoeffenii* Henn. L'auteur, n'ayant trouvé que deux périthèces parasités et le *Didymella* n'étant pas encore à maturité, tient pour possible que l'organisme en question ne soit pas un *Didymella* mais un *Metasphaeria*. Notre *Didymella,* par contre, est en complète maturité, les essais de culture le prouvent; il se distingue de *Didymella pleosporae* par les dimensions et la forme des spores.

19. *Didymella nigra* nov. spec.

Souche E. P. F. No 598

Diagnose latine: *Perithecia irregulariter dispersa, solidaria, in maculis atris nidulanta, depresso-globosa, 180—210 × 140—180 μ, ostiole conico 40—50 μ alto poro rotundato ca 40 μ diam. perforato praedita; pariete 23—25 μ crasso, e cellulis polyedricis minutis 7—9 × 5—8 μ, extus atris, intus pallidioribus vel hyalinis; stroma late effusum, duobus stratis 18—22 μ crassis compositum, stratum superiore ab ostiolo infra cuticulam superiore ad basim peritheciorum diffusum; asci numerosi, cylindracei, bitunicati, stipite brevi, apice rotundati, 8-spori, 45—60 × 7—8 μ; sporae distichae hyalinae, medio septatae, constrictae, fusoideae, rectae, lene attenuatae; 10—12 × 4—5 μ; paraphysoides filiformes, hyalinae.*

Les tiges d'*Astragalus* sont recouvertes de grandes taches noires, irrégulières, allongées dans le sens de la tige, atteignant 1 cm, séparées les unes des autres, ponctuées de nombreux périthèces dispersés, jamais en groupe. Les parties du substrat non recouvertes de taches sont également peuplées de périthèces, qui sont individuellement entourés d'un très faible stroma. Les périthèces sont globuleux-dépressés, 180—210 × 140—180 μ, foncés, munis d'un ostiole cônique, 40—50 μ de hauteur, percé d'un pore d'env. 40 μ de diam. La paroi est mince, 23—25 μ, formée de 5—6 couches de cellules carrées à polyédriques, petites, 7—9 × 5—8 μ, foncées à l'extérieur puis s'éclaircissant vers l'intérieur de la fructification. Les périthèces sont entourés d'un stroma très particulier, formé de 2 couches minces, 18—22 μ d'épaisseur, l'une partant de l'ostiole et s'étendant sous la cuticule, l'autre partant de la base des fructifications et s'étendant à la limite de l'épiderme. Les deux couches sont formées d'un tissu d'hyphes très dense, noir, sans structure reconnaissable. Les hyphes reliant les deux couches sont rares. Les asques, relativement nombreux, s'élèvent de la base parallèles, serrés les uns contre

les autres, 45—60 × 7—8 μ. Cylindriques, sans pédicelle marqué, bituniqués, le sommet arrondi, ils contiennent 8 spores, bisériées, hyalines, bicellulaires, septées au milieu, constrictées, fusoïdes, légèrement atténuées, mesurant 10—12 × 4—5 μ Paraphysoïdes hyalines (cf. fig. 10). Nous avons choisi le nom de „*nigra*" en raison des taches foncées que provoque cette espèce.

Matériel examiné: Sur les tiges mortes d'*Astragalus glycyphyllus* L., Alvaneu-Bad, Albula, Grisons. Leg. E. Müller, 11. 6. 1955.

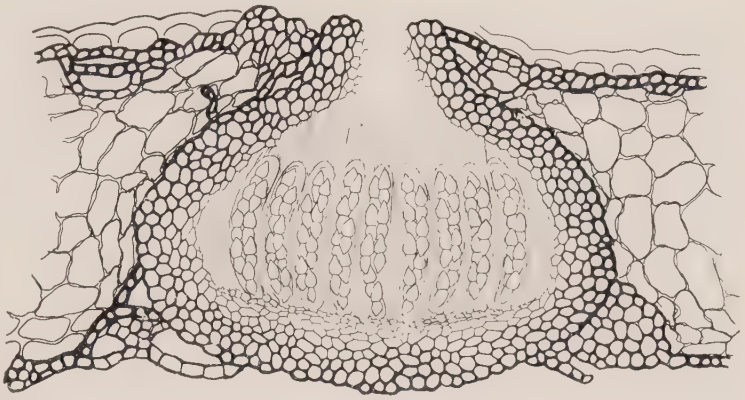


Fig. 10. Coupe à travers un périthèce de *Didymella nigra* nov. spec. Agr. 330×

Forme imparfaite: Sur le matériel récolté, on a trouvé, mélangées parmi les périthèces, des pycnidies ayant la même structure et les mêmes dimensions, munies le plus souvent d'un long ostiole cylindrique, en forme de canal, 65—70 μ de long. Ainsi que les périthèces, les pycnidies reposent sur une couche stromatique et l'ostiole perce une deuxième couche analogue. Les spores sont hyalines; unicellulaires, en bâtonnet lorsqu'elles sont bien développées, sinon ovales, ou elliptiques, 5—10 × 2—4 μ.

En culture sur gélose maltée et sur paille, des cultures obtenues à partir d'ascospores livrèrent de nombreuses pycnidies et des spores unicellulaires, hyalines en bâtonnet, 4—11,5 × 2—4 μ. Il s'agit d'une forme de *Phoma.*

Des essais d'infection sur des plantes vertes d'*Astragalus pentaglotis* L., d'*Astragalus glycyphyllus* L., *Astragalus Cicer* L., *Ononis Natrix* L., *Ononis repens* L., *Melilotus albus* Desr., *Galega officinalis* L., restèrent sans résultat. Mais sur des rameaux secs de *Astragalus glycyphyllus* L. et *Astragalus pentaglotis* L. des pycnidies se formèrent et l'isolation en retour permit d'établir avec certitude qu'il s'agissait du même Champignon. Il est donc fort probable que l'espèce soit un saprophyte.

Très particulier est le tissu stromatique entourant les périthèces et les pycnidies; il ne s'agit pas à vrai dire d'un vrai stroma mais plutôt d'un tissu très serré d'hyphes formant une mince croûte noirâtre. Curieuse est aussi sa répartition en deux couches nettement séparées. Le genre *Omphalospora* Th. et Syd. (syn. *Ascospora* Fries) présente également de ces formations stromatiques. Notre Champignon ne peut toutefois pas être rangé dans ce genre des Dothideacées, étant donné que l'épaisseur de ses parois périthéciales, la forme cylindrique de ses asques, et les spores septées au milieu sont autant de traits l'écartant des *Omphalospora* et le rapprochant des *Didy-*

mella. Plus apparentées nous paraissent les formes de *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johan. avec stroma, décrites par VON ARX (1949), sur *Honckenya peploides* Ehrh. et *Erianthus Ravennae* Pal.

Une fois de plus il nous faut signaler l'étroitesse des liens et les ressemblances existant entre *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johan. et maints *Didymella.*

d. Espèces à retirer du genre *Didymella*

Au cours de notre étude, nous avons aussi rencontré des Champignons dont la présence parmi les espèces du genre *Didymella* Sacc. est une erreur, et qui doivent être classées ailleurs.

Didymella vexata Sacc. a été prise par PETRAK (1955 c) comme espèce type d'un genre nouveau, *Pseudomassariella* Petr. Dans le matériel examiné, échantillon récolté par PETRAK en 1925, nous avons trouvé quelques spores triseptées. Est-ce là une anormalité ou les spores uniseptées ne sont-elles pas à maturité? A ces questions, seules la récolte de matériel nouveau et l'observation suivie de ce Champignon pourraient leur donner une réponse valable.

20. *Keissleriella cladophila* (Niessl) nov. comb.

Synonymes:

Didymosphaeria cladophila Niessl — Oester. Bot. Zeitschr. **25**, 199 (1875).
Didymella cladophila Sacc. — Syll. **1**, 545 (1882).

Un bon nombre de nos espèces ayant été recueillies sur des Légumineuses, c'est avec d'autant plus d'intérêt que nous avons examiné *Didymella cladophila* (Niessl) Sacc., espèce trouvée généralement sur *Genista tinctoria* L. et *Genista germanica* L.

Parmi les nombreux échantillons que nous avons eu sous les yeux, deux Ascomycètes se rencontrent sous la même étiquette. Il s'agit pourtant de deux Champignons bien différents, comme il ressort de leur description ci-dessous.

Le premier, aperçu sur un échantillon récolté par PETRAK en 1940 et sur un autre échantillon de M. CRUCHET (No 3556), est une espèce diaporthale, avec tous les caractères propres à cette série. Les asques sont munis d'un puissant anneau apical et les spores sont hyalines, bicellulaires, peu ou pas constrictées à la cloison, septées au milieu, 15,5—17 × 5—7 μ.

Le deuxième, plus souvent rencontré, se distingue aisément du précédent. Les périthèces sont globuleux ou légèrement déprimés, 250—350 × 200—280 μ. L'ostiole papillaire, percé d'un pore de 30—40 μ, est entouré d'un faible clypeus. Des coupes à travers l'ouverture laissent mieux connaître la structure de l'ostiole; le pore apparaît alors non pas nettement limité mais frangé d'hyphes en formes de soies raides et bruns. La paroi périthéciale est claire à la base, fonçant dans la région de l'ostiole. Les asques sont bituniqués, allongés, cylindriques; les spores, le plus souvent monostichées, sont hyalines, bicellulaires, 9—11 × 4—5 μ, fortement constrictées à la septation; la cellule antérieure est plus large, arrondie, alors que la postérieure est plutôt cônique. Les paraphysoïdes sont nombreuses, bien visibles, hyalines, larges. Ce Champignon correspond parfaitement aux descriptions de *Didy-*

mella cladophila (Niessl) Sacc. données par Niessl (1875) et plus récemment Petrak (1923). Tous les caractères, la structure de l'ostiole surtout, montrent qu'il ne s'agit pas d'une espèce de *Didymella,* mais bien d'une espèce du genre *Keissleriella* v. Höhn.

21. *Keissleriella caudata* (Müller) nov. comb.

Synonyme:

Didymella cautada Müller — Phytopath. Z. **19**, 405 (1952).

C'est également dans le genre *Keissleriella* v. Höhn. que doit être reportée *Didymella caudata* Müller. Les périthèces se terminent par un ostiole très développé, comme nous l'ont appris l'examen du matériel-type et la description de l'organisme. Les caractères du genre *Keissleriella* v. Höhn. — ostiole cylindrique à cônique, garni de poils rudes, asques nombreux au pédicelle plus net que chez *Didymella,* paroi périthéciale mince et composée de petites cellules aplaties — sont plus marqués dans cette espèce-ci que dans la précédente.

Conclusion

A maintes reprises nous avons souligné l'analogie existant entre les genres *Didymella* Sacc. et *Mycosphaerella* (Fries) Johan. En nous basant sur l'étude comparée des deux genres et en nous appuyant sur le travail de von Arx (1949) sur les *Mycosphaerella,* nous arrivons à la conclusion que les deux genres sont semblables. Le seul trait capable de les séparer est la forme imparfaite: les *Didymella* ne forment que des pycnidies du type *Ascochyta* Lib.-*Phoma* Fries et les *Mycosphaerella* des formes plus variées, hyphomycètes, microconidies, pycnidies du type *Septoria* Fries.

On pourrait alors envisager de réunir les deux genres sous un même nom. Comme *Didymella* est le genre le plus ancien (fondé en 1882 alors que *Mycosphaerella* l'a été en 1884) il aurait donc la priorité.

Ce changement est du point de vue pratique irréalisable. Il suffit de songer aux centaines d'espèces connues sous le nom de *Mycosphaerella,* et parmi elles tant de parasites préoccupant nombre de savants et de chercheurs dont la taxonomie n'est pas leur plus grand souci, pour se rendre compte que vouloir une telle transformation serait vain et illusoire; cela signifierait en outre un apport de centaines de synonymes, avec pour effet de tout compliquer et enchevêtrer, ce qui est l'opposé du but que nous nous sommes fixé.

Nous proposons donc de conserver les deux genres *Didymella* Sacc. et *Mycosphaerella* (Fries) Johan. côte à côte, tout en reconnaissant leur très grande parenté.

Sommaire

Dans la première partie de ce travail, on expose les caractères généraux du genre *Didymella* Sacc. Après un court historique, sa position systématique parmi les *Pseudosphaeriales* et ses liens avec le genre *Mycosphaerella* (Fries) Johan., sa forme auxiliaire et son importance en pathologie sont brièvement traitées. Une liste des espèces jadis enregistrées comme *Didymella* et reportées ailleurs par la suite est établie. La seconde partie expose les résultats des

recherches faites sur une vingtaine d'espèces; le genre, dont on donne une nouvelle définition, peut être divisé en trois groupes morphologiques principaux: le groupe *Didymella exigua,* le groupe *Didymella applanata* et le groupe *Didymella eupyrena.* Une clé permet de déterminer les espèces décrites.

Suit la diagnose, accompagnée de l'examen de la forme imparfaite en culture, de chaque espèce, en commençant par l'espèce type du genre, *Didymella exigua* (Niessl) Sacc. et terminant par trois espèces qui s'écartent de la ligne générale. On souligne la similitude du groupe *Didymella exigua* avec *Mycosphaerella Tassiana* (de Not.) Johan. La variété *astragalina* Rehm de *Didymella bryoniae* Fuck. est élevée au rang d'espèce. Cinq espèces nouvelles sont décrites, à savoir dans l'ordre: *Didymella valerianae, Didymella inaequalis, Didymella macrospora, Didymella obstruens,* et *Didymella nigra.* Pour terminer, *Didymella cladophila* (Niessl) Sacc. et *Didymella caudata* Müller sont reportées au genre *Keissleriella* v. Höhn.

Malgré de profondes similitudes, les genres *Didymella* Sacc. et *Mycosphaerella* (Fries) Johan. sont maintenus; pour les différencier un des critères les plus sûrs est la forme auxiliaire, du type *Ascochyta* Lib. et *Phoma* Fries pour le genre *Didymella* Sacc.

Zusammenfassung

Im ersten Teil dieser Arbeit über die Ascomycetengattung *Didymella* Sacc. werden zunächst einige allgemeine Bemerkungen über deren Nomenklatur und Umgrenzung gegeben. Danach werden kurz ihre systematische Stellung — als Glied der Pseudosphaeriales in der unmittelbaren Nähe von *Mycosphaerella* Johan. —, die bei ihren Arten vorkommenden Nebenfruchtformen sowie ihre Bedeutung für die Phytopathologie besprochen. Am Schluß wird eine Liste mit Arten zusammengestellt, welche unter *Didymella* beschrieben wurden, aber zu anderen Ascomycetengattungen gehören.

Im zweiten Teil folgt die Besprechung der einzelnen Arten. Die Gattung *Didymella* Sacc., welche neu umschrieben wird, kann nach morphologischen Gesichtspunkten in drei Artengruppen geteilt werden: 1. Gruppe der *Didymella exigua;* 2. Gruppe der *Didymella applanata;* 3. Gruppe der *Didymella eupyrena.* Nicht alle Arten konnten aber in einer dieser Gruppen untergebracht werden, und die Artengruppen sind durch Übergänge miteinander verbunden. Ein Schlüssel soll das Auffinden der Arten erleichtern. Neu beschrieben wurden fünf Species: *Didymella valerianae, Didymella inaequalis, Didymella macrospora, Didymella obstruens* und *Didymella nigra.* In die Gattung *Keissleriella* v. Höhn. gehören *Didymella cladophila* (Niessl) Sacc. und *Didymella caudata* Müller. Die bis heute als Varietät betrachtete *Didymella bryoniae* (Fuck.) Sacc. var. *astragalina* Rehm wird unter *Didymella astragalina* als eigene Art eingeführt.

Am Schluß wird nochmals das Verhältnis von *Didymella* Sacc. und *Mycosphaerella* Johan. besprochen. Trotz der großen Ähnlichkeit der beiden Gattungen werden sie als selbständig betrachtet. Eines der wichtigsten Merkmale für *Didymella* ist die Nebenfruchtform vom Typus *Ascochyta* Lib. oder *Phoma* Fries.

Références

Ade, A., 1923: *Didymella Alectorolophi* Rehm. Hedwigia **64**, p. 294.

Allescher, A., 1901: Dans Rabenhorst, Kryptogamenflora (1), **6**.

von Arx, J. A., 1949: Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Mycosphaerella*. Sydowia **3**, 28—100.

— —, 1950: Einige neue Ascomyceten aus der Schweiz. Sydowia **4**, 389—398.

— —, 1952: Über einige Ascomycetengattungen mit ungleich zweizelligen Sporen. Ber. Schw. Bot. Ges. **62**, 340—362.

Barthelet, J., 1935: Observations sur les maladies des rameaux de framboisiers. Rev. path. entom. agric. **22**, 1—8.

Baumann, G., 1954: Ein Beitrag zur Epidemiologie und Bekämpfung eines Erregers der Fuß- und Brennfleckenkrankheit der Erbse. Nachrbl. dtsch. Pflzschutzd. Heft 4, 1—6

Clements, F. E., and Shear, C. L., 1931: The Genera of Fungi. The H. W. Wilson Co., New York.

Corbaz, R., 1955: Sur *Didymella phacae* Corbaz. Sydowia **9**, 229—230.

Dennis, R. W., 1946: Notes on some British Fungi ascribed to *Phoma* and related Genera. Trans. Brit. Myc. Soc. **29**, 11—41.

Feltgen, J., 1903: Vorstud. Pilz. Luxemb. Nachtr. **3**, 252.

Fuckel, L., 1869: Symbolae mycologicae — Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Pilze.

Gäumann, E., 1949: Die Pilze. Birkhäuser, Basel.

— —, 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Birkhäuser, Basel.

— —, Naef-Roth, St., und Miescher, G., 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Z. **16**, 257—288.

von Höhnel, F., 1909: Frag. No 377: Über *Pterydiospora javanica* Penz. et Sacc. Sitzber. Ak. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. **118**[1], 1190—1192.

— —, 1911: Frag. No 711: Über *Sphaeria Tunae* Spreng. l. c. **120**[1], 455—456.

— —, 1917: Frag. No 1033: Über *Sphaeria tosta* Berk. et Br. l. c. **126**[1], 355—357.

— —, 1918 a: Über die Gattung *Didymella* Sacc. Ann. myc. **16**, 64—65.

— —, 1918 b: Über *Dothidea Iridis* Desmazières. Ann. myc. **16**, 65—66.

— —, 1918 c: Über *Sphaeria Myricariae* Fuckel. Ann. myc. **16**, 156—157.

— —, 1919 a: Fragment No 1168: Über *Didymella praeclara* Rehm. Sitzber. Ak. Wien, math.-nat. Kl. **128**, 577—579.

— —, 1919 b: Fragment No 1169: Über *Didymella sambucina* Rehm. l. c. 579—582.

— —, 1919 c: Fragment No 1187: Über *Dothidea Prostii* Desmazières. l. c. 614—616.

— —, 1923: System der *Fungi Imperfecti* Fuckel. Dans R. Falck, Mycologische Untersuchungen und Berichte. Verl. Gotthelft, Cassel.

Holm, L., 1953: Taxonomical Notes on Ascomycetes. Svensk. Bot. Tidskrift **47**, 520—525.

Jones, L. K., 1927: Studies of the Nature and Control of Blight Leaf and Pod Spot, and Footrot of Peas caused by Species of *Ascochyta*. N. Y. State Agric. Exp. Stat. Bull. 547.

Klebahn, H., 1918: Haupt- und Nebenfruchtformen der Ascomyceten. Borntraeger, Berlin.

— —, 1921: Der Pilz der Tomatenstengelkrankheit und seine Nebenfruchtform. Z. Pflanzenkrht. **31**, 1—16.

Koch, L. W., 1931: Spur Blight of Raspberries in Ontario caused by *Didymella applanata*. Phytopathology **21**, 247—287.

Labrousse, F., 1931: L'anthracnose du pois-chiche. Rev. Path. Entom. agric. **18**, 226—231.

Levine, M., and Schoenlein, H. W., 1930: A Compilation of Culture Media for the Cultivation of Microorganisms. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.

Liesau, O., 1933: Zur Biologie von *Didymella lycopersici*, dem Erreger der Tomatenkrebskrankheit. Phytopath. Z. **5**, 1—40.

Luc, M., 1953: Champignons graminicoles de la Côte d'Ivoire. I. *Pyrenomycètes.* Revue de Mycol. **18,** Suppl. colonial 5—37.

Luttrell, E., 1951: Taxonomy of the Pyrenomycetes. The Univ. Missouri Studies 24 (3), 1—120.

Müller, E., 1950: Die schweizerischen Arten der Gattung *Leptosphaeria* und ihrer Verwandten. Sydowia **4,** 185—319.

— —, 1952: Pilzliche Erreger der Getreideblattdürre. Phytopath. Z. **19,** 403—416.

— —, 1953: Kulturversuche mit Ascomyceten I. Sydowia **7,** 325—334.

— —, und von Arx, J. A., 1950: Einige Aspekte zur Systematik pseudosphärialer Ascomyceten. Ber. Schw. Bot. Ges. **60,** 329—397.

— —, und Corbaz, R, 1955: Kulturversuche mit Ascomyceten II. Sydowia **9,** 256—259.

— —, und — —, 1956: Kulturversuche mit Ascomyceten III. Sydowia, en impression.

Munk, A., 1953: The System of the Pyrenomycetes. Dansk. Bot. Ark. **15** (2), 1—161.

Nannfeldt, J. A., 1932: Studien über die Morphologie und Systematik der nichtlichenisierten Inoperculaten Discomyceten. Nova acta soc. sc. Uppsaliensis, Ser. 4, **8.**

Nicholls, H. M., 1925: Annual report of the government microbiologist. Tasmania Agric. and Stock Dept.; Rpt. for 1924—25.

Niessl, 1875: Neue Kernpilze. Oesterr. bot. Z. **25.**

Petrak, F., 1919: Über *Didymella superflua* (Awld.) Sacc. Ann. myc. **17,** 124—128.

— —, 1921: Über die Schwarzfäule der Tomaten. Ann. myc. **19,** 17—20.

— —, 1923: Über *Didymella, Mycosphaerellopsis* und verwandte Gattungen. Ann. myc. **21,** 19—30.

— —, 1925 a: Mycologische Notizen. 416. Über die Gattung *Haplotheciella* v. Höhn. Ann. myc. **23,** 30—31.

— —, 1925 b: Über *Diplodina lappae* Pieb. Ann. myc. **23,** 43.

— —, 1927: Über *Didymella tosta* (Berk. et Br.) Sacc. Ann. myc. **25,** 237—239.

— —, 1929: Über *Didymella Alectorolophi* Rehm. Ann. myc. **27,** 379.

— —, 1940: Über *Didymella superflua* (Auersw.) Sacc. Ann. myc. **38,** 234—236.

— —, 1943: *Didymella cretica* Petr. Denk. Akad. Wissens. Wien **105,** 9.

— —, 1947: Kleine Beiträge zur Pilzflora von Australien und Polynesien. Sydowia **1,** 264—276.

— —, 1949: Beiträge zur Pilzflora Irans. *Didymella cousiniae* nov. spec. Sydowia **3,** 277.

— —, 1955 a: Mykologische Bemerkungen. Sydowia **9,** 484.

— —, 1955 b: Neue Askomyceten und Fungi Imperfecti der österreichischen Flora. Sydowia **9,** 574—584.

— —, 1955 c: Über *Didymella* Sacc. und die neue Gattung *Pseudomassariella* n. gen. Sydowia **9,** 601—603.

Rehm, H., 1907: *Didymella sambucina* Rehm. Ann. myc. **5,** 538.

— —, 1910: *Didymella obscura* Rehm n. sp. Ann. myc. **8,** 300.

Saccardo, P. A.: Sylloge Fungorum Vol: 1—25 (1882—1931).

Shear, C. L., 1923: *Phoma:* a sample of mycological nomenclature and classification. Mycologia **15,** 174—182.

Stevens, F., 1925: Plant Disease Fungi. Macmillan, New York.

Stone, R. E., 1912: The Life History of *Ascochyta* on Some Leguminous Plants. Ann. myc. **10,** 564—592.

Unamuno, L., 1932: Notas micologicas. Bol. Soc. Esp. Hist. Nat. **32,** 443—444.

Vaughan, R., 1913: *Mycosphaerella pinodes,* the ascigerous stage of *Ascochyta pisi.* Phytopathology **3,** 71—72.

Viennot-Bourgin, G., 1949: Les champignons parasites des plantes cultivées I et II. Masson, Paris.

Winter, G., 1887: Dans Rabenhorst, Kryptogamenflora (1) **2.**

Wollenweber, H., und Hochapfel, H., 1936: Beiträge zur Kenntnis parasitärer und saprophytischer Pilze I. Z. Parasitenkde. **8,** 561—605.

Istituto di Patologia Vegetale — Bologna — Italia
Direttore: Prof. G. Goidànich

Ricerche intorno ad una virosi del pomodoro (mal della striscia)

II. Presenza del virus sui semi e nel terreno

Di

Antonio Canova

E' noto che semi di pomodoro ottenuti da frutti differenziatisi su piante affette dal virus del mosaico del tabacco (VMT), risultano inquinati dal patogeno e pertanto possono funzionare da vettori del patogeno medesimo trasmettendolo alle giovani piantine.

La particolarità, rilevata dapprima da Berkeley e Madded (1, 2) per quanto riguarda i due ceppi del VMT agenti uno del mosaico e l'altro dello „streak" del pomodoro, è stata successivamente chiaramente riconfermata dalle ricerche di Doolittle e Beecher (7). Studi di altri AA. come: Milbrath (8), Chamberlain (5), Chamberlain e Fry (6), Raychadhuri (9), John e Sova (10), ecc., hanno ulteriormente approfondite le conoscenze del fenomeno, soffermandosi principalmente sul periodo di tempo in cui il virus si mantiene attivo sulla superficie del seme, sul variare dell'infeziosità di questo variando le modalità di estrazione dal frutto e il trattamento subìto dopo la separazione dai tessuti di questo (fermentazione, lavatura in acqua corrente, disseccamento, ecc.) e sui mezzi atti a sterilizzare il seme, ad eliminare cioè l'infeziosità.

Dopo aver sperimentalmente dimostrato (4) che il virus che colpisce il pomodoro della regione marchigiana, fra Pesaro e S. Benedetto del Tronto, può essere ritenuto un ceppo del VMT, abbiamo reputato utile per completare il quadro delle nozioni intorno alla malattia, compiere una serie di ricerche dirette a rilevare l'esistenza o meno della possibilità dell'agente infettivo di inquinare i semi dei frutti delle piante virosate. Assodata questa possibilità abbiamo successivamente tentato di stabilire, per quanto tempo esso si mantiene attivo sulla superficie del seme disseccato, come

varia la carica di infeziosità sottoponendo il seme a trattamenti diversi, prima (fermentazione) e dopo (lavatura in acqua corrente, immersione in soluzione acida) l'estrazione.

Parallelamente alle suddette ricerche, altre sono state effettuate intese a determinare la presenza o meno del virus nel terreno dei semenzai ed in quello di pieno campo negli orti della citata zona delle Marche.

Determinazione dell'infeziosità nei semi

a) Semi non fermentati

Semi estratti da frutti maturi — presentanti sintomi della virosi-sono stati, per metà, sottoposti a lavatura in acqua corrente per due ore in modo da allontanare gran parte dei residui dei tessuti della bacca, ed i restanti fatti seccare così come si trovavano al momento della estrazione.

L'infeziosità di questi è stata saggiata nel seguente modo: venti semi di quelli sottoposti a lavatura e venti degli altri erano posti — separatamente — a bagno, per tre ore, in cinque cc di acqua distillata. Successivamente, separati i semi dal liquido, questo era usato ad inoculare dieci foglie di *Nicotiana glutinosa*.

Questa prova, i cui risultati sono riportati nella tabella seguente, è stata ripetuta periodicamente.

Periodo di conservazione dei semi	Semi non lavati	Semi lavati
7 giorni	molte lesioni locali per foglia	varie lesioni locali per foglia
18 giorni	molte lesioni locali per foglia	varie lesioni locali per foglia
35 giorni	molte lesioni locali per foglia	poche lesioni locali per foglia
62 giorni	varie lesioni locali per foglia	qualche lesione locale per foglia
90 giorni	varie lesioni locali per foglia	nessuna lesione locale per foglia
113 giorni	qualche lesione locale per foglia	nessuna lesione locale per foglia
140 giorni	nessuna lesione locale per foglia	nessuna lesione locale per foglia

b) Semi fermentati

Frutti maturi, con sintomi della malattia, sono stati esposti all'aria aperta per un periodo di due settimane, in modo avessero a subire una vivace fermentazione. Successivamente da questi furono estratti i semi, in parte lavati in acqua corrente per due ore, in parte no.

L'infeziosità è stata saggiata, periodicamente, nel modo descritto precedentemente. I risultati sono esposti nella seguente tabella:

Periodo di conservazione dei semi	Semi non lavati	Semi lavati
7 giorni	varie lesioni locali per foglia	poche lesioni locali per foglia
20 giorni	varie lesioni locali per foglia	qualche lesione locale per foglia
35 giorni	poche lesioni locali per foglia	nessuna lesione locale per foglia
47 giorni	qualche lesione locale per foglia	nessuna lesione locale per foglia
58 giorni	nessuna lesione locale per foglia	nessuna lesione locale per foglia
70 giorni	nessuna lesione locale per foglia	nessuna lesione locale per foglia

Costatato che la fermentazione del frutto prima dell'estrazione dei semi riduce, sensibilmente, la carica infettiva di questi, abbiamo esaminato se ciò si verificava anche a carico dei tessuti del frutto stesso.

Una uguale quantità di polpa prelevata contemporaneamente da frutti fermentati e no, previa diluizione in uno stesso volume di acqua distillata, è stata utilizzata in inoculazioni artificiali su foglie di *Nicotiana glutinosa.*

In ogni caso il numero di lesioni necrotiche localizzate riscontrato nelle foglie di *Nicotiana glutinosa*, inoculate sia con un tipo di polpa che con l'altro, era pressochè uguale.

Contemporaneamente alle indagini dirette, sulla presenza del virus nei semi, effettuate nel modo sopra descritto, altre ne sono state fatte, tendenti a dimostrare la esistenza dello stesso fenomeno indirettamente. E ciò ricercando la presenza dell'agente infettivo nelle giovani piantine ottenute dai semi estratti da frutti ammalati [1]).

Semi di questo tipo — fermentati e no — in parte lavati e in parte no, sono stati seminati, a vari intervalli di tempo, in vermiculite. Quando le giovani piantine di pomodoro avevano raggiunto uno sviluppo vegetativo pari alla differenziazione della terza fogliolina composta, erano singolarmente, accuratamente sradicate e ripulite, a mezzo di acqua corrente, di tutti i detriti attaccati alle radici. Indi, sempre singolarmente, ridotte in poltiglia entro provette e il succo, previa aggiunta di qualche cc. di acqua distillata, impiegato in prove di infezione su foglie di *Nicotiana glutinosa.*

Per ogni tipo di seme vennero saggiate quindici piantine e quindi inoculate altrettante foglie di tabacco.

Nella tabella seguente sono riportati i risultati, indicanti il numero di foglie sulle quali si sono riscontrate le lesioni necrotiche localizzate caratteristiche del virus, delle quindici inoculate:

[1]) Questa ricerca è stata fatta anche per avere elementi che indicassero in quali proporzioni l'infezione si trasmette dai semi ai germinelli.

Periodo di conservazione dei semi	Semi da frutti non fermentati		Semi da frutti fermentati	
	non lavati	lavati	non lavati	lavati
7 giorni	3	—	1	—
30 giorni	4	2	1	1
72 giorni	2	1	—	—
107 giorni	1	—	—	—

Determinazione infeziosità nel terreno

Da parte di CHAMBERLAIN (5, 6) più specificatamente, è stato dimostrato che i ceppi del VMT, agenti del mosaico del pomodoro a dello „streak" semplice, si ritrovano attivi nel terreno ove vi giungono a mezzo dei detriti delle piante infette o allo stato libero attraverso l'apparato radicale di queste.

Noi abbiamo voluto analizzare se anche il ceppo italiano del VMT, identificato come agente del "mal della striscia" del pomodoro sia dotato di tale particolarità. Più precisamente se nel terreno di semenzai o in quello di pieno campo, della zona orticola di Fano, ove da parecchio tempo annualmente si fanno germinare semi di pomodoro e si allevano piante, fosse presente il virus.

a) Nei semenzai[1])

In terriccio raccolto in uno di questi semenzai sono stati fatti germinare semi di pomodoro — dei quali era stata accertata l'assenza di inquinamenti da virus — allevandovi le giovani piantine fino al momento della differenziazione della terza fogliolina composta. Successivamente una trentina di queste sono state accuratamente rimosse ad una ad una, lavate in acqua corrente onde allontanare i detriti di terreno dalle radici e messe ognuna in una provette e ridotte in poltiglia. Questo materiale, previa aggiunta di qualche cc di acqua distillata, è stato utilizzato nelle prove di infezione su foglie singole di *Nicotiana tabacum* var. White Burley [2]).

Solo su due delle trenta foglie inoculate, con il succo di altrettante piantine, si sono formate le lesioni necrotiche localizzate caratteristiche dell'infezione del virus.

b) In pieno campo

In terreno raccolto[3]) attorno a piante colpite dalla virosi — conservato per tre mesi entro sacchetti di carta — sono stati fatti germinare semi di

[1]) Il materiale base di questi, dal momento che nella zona si è diffusa la coltura del pomodoro, è rimasto sempre quello. Spesso, come ci hanno detto gli orticoltori, vengono interrati in esso i resti delle piante di pomodoro.

[2]) E' stata usata indifferentemente questa specie di *Nicotiana*, in sostituzione della *Nicotiana glutinosa*, poichè anche su di essa si hanno lesioni necrotiche localizzate ben definite.

[3]) Sempre in un orto della citata regione marchigiana.

pomodoro. Le giovani piantine ottenute sono state trattate come nella esperienza precedente. Delle trenta inoculazioni fatte solo cinque hanno dato risultato positivo, rilevando cioè la presenza del virus.

Prova di disinfezione del seme

Semi ottenuti da frutti non fermentati raccolti su piante ammalate e non sottoposti a lavatura dopo l'estrazione, sono stati immersi per 24 ore in una soluzione di acido cloridrico al 6 %. Successivamente, previa lavatura in acqua corrente, è stata saggiata la eventuale infeziosità sia direttamente (esame diretto del seme) che indirettamente (esame delle giovani piantine) con la modalità sopra descritta. In nessuno dei casi è stata riscontrata presenza del virus.

La germinabilità del seme è risultata non avere subito effetti dal trattamento con soluzione acida.

Conclusioni

Come abbiamo sperimentalmente dimostrato anche il ceppo del VMT isolato da materiale italiano (pomodori della regione marchigiana), può trasmettersi attraverso i semi ottenuti da frutti raccolti da piante infette.

La fermentazione del frutto non sembra ridurre la carica infettiva della polpa, mentre ciò, invece, si verifica a proposito dei semi. Analogamente, la lavatura di questi ultimi in acqua corrente per due ore attenua la loro infeziosità e ciò specialmente in quelli estratti da bacche fermentate. L'immersione, invece, in una soluzione di acido cloridrico al 6 % per una giornata, sterilizza completamente, per quanto riguarda l'infeziosità, il seme senza compromettere minimamente la capacità germinativa di esso.

Tutto questo torna a conferma di quanto hanno supposto Chamberlain e Fry (6) a proposito dei ceppi del VMT agenti del mosaico della „streak" del pomodoro. E cioè, che l'infeziosità nei semi è data soltanto dalla presenza del virus sulla superficie del seme. Poichè tutte quelle operazioni atte a liberare la superficie del seme dai resti dei tessuti del frutto, riducono la carica virotica in quell'organo.

Così, noi pensiamo, la fermentazione del frutto prima dell'estrazione dei semi attenua l'infeziosità di questi, soltanto in conseguenza di una minore quantità di residui dei tessuti della polpa che vi rimangono aderenti, dato che la carica virosica del frutto non sembra subire variazioni dopo questo trattamento.

Circa la permanenza del virus in forma attiva sulla superficie dei semi non sottoposti a trattamenti particolari prima e dopo l'estrazione, abbiamo osservato essere questa di un periodo non molto lungo, tale cioè

da non pregiudicare il valore del seme come materiale da riproduzione. Questo quando, come accade normalmente, il seme raccolto durante l'estate viene utilizzato soltanto nella primavera successiva.

Alcuni ricercatori, hanno trovato essere tale periodo assai più lungo. CHAMBERLAIN (6) stesso ha dimostrato che il virus dello „streak" era ancora attivo sul seme dopo più di due anni dall'estrazione di questo. Ciò, però, sembra essere in stretto rapporto con il modo con cui i semi vengono conservati. JOHN e SOVAN (10) hanno trovato che semi estratti da frutti di pomodoro raccolti in piante colpite dal VMT, risultano inquinati dal virus anche dopo tre anni se conservati chiusi in sacchi; mentre se conservati in magazzino esposti liberamente all'aria, perdono l'infeziosità in un periodo assai più breve: circa 6—7 settimane. I due sperimentatori americani pensano che tali notevoli differenze siano da porre in relazione alla disponibilità di aria, che è sensibilmente maggiore nel secondo caso.

Il virus agente del mal della striscia l'abbiamo ritrovato, inoltre, attivo nel terreno dei semenzai della zona orticola marchigiana e, in condizioni particolari, nel terreno di pieno campo. Ciò, ovviamente, costituisce un elemento negativo di primo ordine per la lotta contro la malattia di cui si parla: poichè se nel primo caso (semenzai) è possibile con interventi di modesta importanza ovviare all'inconveniente, nel secondo invece, la cosa si presenta alquanto più difficoltosa a meno di non adeguarsi al concetto di abbandonare, per qualche tempo, la coltura della solanacea in quegli appezzamenti ove maggiormente infierisce l'infezione.

Riassunto

Viene sperimentalmente accertato che il ceppo del VMT, presente nelle colture di pomodoro della regione marchigiana, può inquinare i semi dei frutti differenziatisi sulle piante infette.

L'infeziosità dei semi provenienti da piante virosate è attenuata dalla lavatura di questi in acqua corrente per due ore e anche dalla fermentazione dei frutti prima della estrazione dei semi. Tale infeziosità è minima se si abbinano i due processi; la fermentazione non diminuisce la carica infettiva della polpa.

L'immersione in una soluzione di acido cloridrico al 6 % per 24 ore, elemina completamente, l'infeziosità, del seme senza compromettere le capacità germinative di questo.

Tutto ciò conferma quanto è stato supposto da altri AA., che l'infeziosità dei semi è data soltanto dalla presenza del virus sulla sua superficie.

L'agente infettivo è stato trovato attivo, inoltre, nel terreno dei semenzai e in quello di pieno campo, dove probabilmente vi giunge mediante i residui delle piante infette e allo stato libero attraverso le radici di quest'ultime.

Summary

Researches on the virosis of tomato (streak disease). II. Presence of the virus on the seeds and in the soil.

It is experimentally ascertained that the strain of the tobacco mosaic virus present in tomato plants of the Marche region in Italy can defile the seeds of the fruits grown on infected plants.

The infectiousness of the seeds from infected plants is reduced by a washing of the seeds during two hours in running water or by a fermentation of the fruits. The fermentation does not reduce the infectiousness of the pulp.

Immersion of the seeds in 6 % hydrochloric acid for 24 hours reduces the infectiousness to zero without affecting the germination of the seeds.

These observations confirm that the infectiousness of the seeds is due to the presence of the virus on their surface.

Furthermore, the infective agent has been found active in the soil of seed beds and fields which it probably reaches from the residues of the former cultivations or which is liberated by the roots of infected plants.

Zusammenfassung

Untersuchungen über eine Tomatenvirose (Strichelkrankheit). II. Samen und Boden als Virusträger.

Es konnte experimentell bewiesen werden, daß der Virusstamm, welcher in der Marcha (Italien) eine Tomatenkrankheit hervorruft, durch Samen kranker Pflanzen übertragen wird. Der Befall, welcher durch Samen kranker Pflanzen verursacht wird, kann vermindert werden, wenn man die Samen während zwei Stunden unter fließendem Wasser auswäscht oder wenn man die Früchte vor dem Herauslösen der Samen fermentiert. Durch die Fermentation wird aber das Fruchtfleisch nicht weniger infektiös.

Einwirkung von 6%iger Salzsäure auf die Samen kranker Pflanzen während 24 Stunden vermag das Virus vollständig abzutöten, ohne die Keimfähigkeit der Samen zu beeinträchtigen.

Diese Beobachtungen bestätigen die Richtigkeit der Vermutung, daß das Virus an der Oberfläche der Samen sitzt.

Das Virus konnte auch im Boden nachgewiesen werden, wohin es wahrscheinlich durch Wurzeln und Überreste kranker Pflanzen gelangt.

Bibliografia

1. Berkeley, G. H., Madden, G. O., 1932: Transmission of streak and mosaic diseases of tomato through seed. Scient. Agric. 194—197 (Riassunto in RAM, 1933, XII, 250).
2. — —, — —, 1933: Transmission of streak and mosaic diseases of tomato through seed. II. Scient. Agric. 455—457 (Riassunto in RAM, 1933, XII, 540).

3. Brok, R. D., 1952: The use of trisodium phosphate as an inactivating agent for plant viruses. J. Austral. Agr. Sci. **18**, 41—43 (Riassunto in RAM, 1953, XXXII, 61).

4. Canova, A., 1956: Ricerche intorno ad una virosi del pomodoro. I. Individuazione dell'agente infettivo. Phytopath. Z. **28**.

5. Chamberlain, E. E., 1947: Tomato streak. Bull. N. Z. Sci. Industr. Res. **281**, 11 pp.

6. — —, Fry, P. R., 1950: Influence of methods of tomato seed extraction on seed transmission of tomato mosaic and tomato streak. N. Z. J. Sci. Tech. A. **32**, 19—23.

7. Doolittle, S. P., Beecher, F. S., 1937: Seed transmission of tomato mosaic following the planting of freshly extracted seed. Phytopathology **27**, 800—801.

8. Milbrath, J. A., 1937: An indication of seed transmission of mosaic virus in tomato seed. Phytopathology **27**, 868—869.

9. Raychandhuri, S. P., 1952: Studies on internal browning of tomato. Phytopathology **42**, 591—595.

10. John, C. A., Sova, C., 1955: Incidence of tobacco mosaic virus on tomato seed. Phytopathology **44**, 636—637.

Aus der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon
(Vorstand: Dr. R. Salzmann)

Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten

I. Wirkung der Vorkultur auf verschiedene Fußkrankheitserreger bei Getreide

Von
H. Zogg

Seit langem ist bekannt, daß durch geeignete oder ungeeignete Vorkultur Veränderungen der Pathogenität bei Erregern von Pflanzenkrankheiten hervorgerufen werden können (einige Beispiele in Gäumann 1951). Bei kürzerer oder längerer Kultivierungsdauer solcher Parasiten kann die Pathogenität oft verlorengehen. Diese Beobachtungen wurden auch mit Fußkrankheitserregern gemacht, die seinerzeit für Mischinfektionsversuche (Zogg 1951) verwendet wurden. Es zeigte sich, daß die Pathogenität verschiedener Parasiten im Verlaufe der Jahre stark zurück- oder ganz verlorengegangen ist, obwohl das saprophytische Wachstum auf Nährböden heute (nach vier bis sechs Jahren) kaum anders verläuft als ehedem. Die Pathogenität konnte durch einfaches Überimpfen auf Stroh wenigstens zum Teil zurückgewonnen werden. Daß Veränderungen der Pathogenität und des Wachstums z. B. auch durch Zugabe von Vitaminen ausgelöst werden können, wird in einer weiteren Publikation gezeigt. Hier soll — gewissermaßen als Einleitung für spätere Arbeiten — auf die Vorkultur mit pflanzlichem Material eingegangen werden.

Verwendete Parasiten (Erreger von Fußkrankheiten des Getreides):

1. *Hendersonia aberrans* Petr., Sommerweizen, Reckenholz (Zürich); isoliert: 3. Mai 1949.
2. *Calonectria graminicola* (Berk. et Br.) Wr., Winterweizen, Lugano (Tessin); isoliert: 4. Mai 1951.
3. *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc., Winterroggen, Reckenholz (Zürich); isoliert: 2. April 1949.
4. *Septoria tritici* Rob., Winterweizen, Oerlikon (Zürich); isoliert: 3. März 1951.

Versuchsmethodik: Die Pilze wurden seit ihrer Isolation auf 2 % Malzagar meistens bei etwa 3 bis 5 ° C im Dunkeln gehalten und ungefähr alle Jahre in frische Reagenzröhrchen überimpft. Vor der Versuchsanlage kamen sie auf 2 % Malzagar in Petrischalen, dann auf steriles Stroh (1 Teil kurze Strohstücke + 6 Teile H_2O) bzw. in synthetische Nährlösung

(2 % Glukose, 1,2 ‰ Glykokoll, 1,5 ‰ KH_2PO_4, 0,5 ‰ $MgSO_4$, Spur $FeCl_3$, 20 γ/l Vit. B_1). Die Infektion erfolgte in Tontöpfen von 7 cm Durchmesser; als Substrat diente Terralit und Quarzsand (1 : 1 Vol.). Die Weizenkörner (Probus-Winterweizen) wurden während vier Stunden vorgequollen (das Wasser mehrere Male gewechselt), dann während zehn Minuten in Wasser von 52° C (Heißwasserbeize) getaucht, in 5 ‰ Formalinlösung (käufliches Formalin 40%ig) abgeschreckt, in der gleichen Lösung während zwei Stunden gebeizt, anschließend dreimal mit sterilem, destilliertem Wasser ausgewaschen, in sterile Filterpapierstreifen eingewickelt und in Feuchtschalen zum Vorkeimen während zwei bis drei Tagen (Zimmertemperatur) gehalten. Für die Infektion wurden die Tontöpfe zu zwei Dritteln mit trocken-sterilisiertem Terralit-Quarzsand-Gemisch (120° C, drei Stunden) gefüllt, mit Knopscher Nährlösung angefeuchtet, die Infektionsmaterialien in einer Schicht ausgebreitet, die vorgekeimten Körner (20 Körner je Topf) darauf ausgelegt, mit sterilem Terralit-Quarzsand-Gemisch bis zum Rand aufgefüllt, mit Knop vollständig befeuchtet und während 17 bis 18 Tagen unter günstiger Beleuchtung bei Zimmertemperatur aufgestellt. Die Bonitierung der Krankheitsindizes (K%) erfolgte nach der bereits früher beschriebenen Methode (ZOGG 1951). Das Wachstum der Pilze zeigte nach vier bzw. sechs Jahren keine merklichen Änderungen.

1. *Hendersonia aberrans* Petr.

Der Pilz wurde anfangs Mai 1949 von Sommerweizenstoppeln isoliert und die ersten Infektionsversuche Ende 1949 vorgenommen. Es zeigte sich dazumal ein Krankheitsindex von etwa 45 %, der auch während des Jahres 1950 beibehalten wurde (mittelstarke Infektion). Weitere Infektionsversuche kamen erst 1955 zur Durchführung (Krankheitsindex etwa 25 %). Die Pathogenität sank somit auf ungefähr die Hälfte. Wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, wurde durch 20 bzw. 87 Tage dauernde Kultivierung auf Stroh die Pathogenität des Pilzes wieder auf den normalen, ursprünglichen Stand gehoben, der auch dann beibehalten wurde, wenn der Pilz nach 67 Tage dauernder Kultur auf Stroh noch 20 Tage auf der Nährlösung wuchs.

Tabelle 1
Wirkung der Vorkultur auf die Pathogenität von *Hendersonia aberrans*

H. aberrans etwa 6 Jahre auf 2 % Malzagar, dann vor der Infektion auf:	K %	Infektion
Nährlösung (20 Tage)	23,1	schwach
Stroh (20 Tage)	40,1	mittel
Stroh (67 Tage), dann Nährlösung (20 Tage)	35,5	mittel
Stroh (67 Tage), dann nochmals Stroh (20 Tage)	44,1	mittel
nicht infiziert	3,9	
Grenzdifferenz 5 %	5,8	
Grenzdifferenz 1 %	8,0	

2. *Calonectria graminicola* (Berk. et Br.) Wr.

Ursprünglich verursachte *C. graminicola* einen starken Befallsgrad (etwa 60 %), der nach vierjähriger Kultivierungsdauer auf 2 % Malzagar auf ungefähr die Hälfte vermindert wurde, was aus der Tabelle 2 hervorgeht. Auf Stroh überimpft, erreichte der Krankheitsindex den ursprünglichen Wert. Wurde dagegen der Pilz zuerst auf Stroh (während 67 Tagen) und dann auf Nährlösung (während 45 Tagen) gehalten, so wurde der Befallsgrad wiederum stark nach unten verschoben.

Tabelle 2

Wirkung der Vorkultur auf die Pathogenität von *Calonectria graminicola*

C. graminicola etwa 4 Jahre auf 2 % Malzagar, dann vor der Infektion auf:	K %	Infektion
Nährlösung (45 Tage)	35,4	schwach-mittel
Stroh (45 Tage)	59,6	stark
Stroh (67 Tage), dann Nährlösung (45 Tage)	22,7	schwach
Stroh (67 Tage), dann nochmals Stroh (45 Tage)	62,2	stark
nicht infiziert	12,5	
Grenzdifferenz 5 %	9,0	
Grenzdifferenz 1 %	11,8	

3. *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc.

Bei diesem Pilz liegen die Verhältnisse gleich wie bei *C. graminicola*. Auf 2 % Malzagar und auf Nährlösung geht die Pathogenität zum größten Teil verloren. Doch kann sie mittels Kultivierung auf Stroh (z. B. während 20 Tagen, nachdem der Pilz etwa sechs Jahre auf 2 % Malzagar gehalten wurde) wieder voll regeneriert werden. Auch mit diesem Beispiel zeigt sich, daß der Pilz nur schwach zu infizieren vermag, wenn er nach Stroh auf Nährlösung gezüchtet wird.

Tabelle 3

Wirkung der Vorkultur auf die Pathogenität von *Ophiobolus herpotrichus*

O. herpotrichus etwa 6 Jahre auf 2 % Malzagar, dann vor der Infektion auf:	K %	Infektion
Nährlösung (20 Tage)	6,5	keine
Stroh (20 Tage)	41,8	mittel
Stroh (67 Tage), dann Nährlösung (20 Tage)	17,2	schwach
Stroh (67 Tage), dann nochmals Stroh (20 Tage vor Infektion)	40,1	mittel
nicht infiziert	3,9	
Grenzdifferenz 5 %	8,4	
Grenzdifferenz 1 %	11,6	

4. *Septoria tritici* Rob.

Dieser Parasit vermochte Weizen ursprünglich sehr stark zu infizieren (K%: 70 bis 80). Nach Kultivierung auf 2 % Malzagar während etwa viereinhalb Jahren verlor er seine Pathogenität vollständig. Eine Regeneration auf Stroh erfolgte nur teilweise, indem *S. tritici* einen nur noch knapp halb so starken Befall zu verursachen vermochte als vor viereinhalb Jahren. Auch hier zeigte sich, daß die Pathogenität ganz verlorenging, wenn der Pilz zuerst auf Stroh und nachher auf Nährlösung gezüchtet wurde.

Tabelle 4

Wirkung der Vorkultur auf die Pathogenität von *Septoria tritici*

S. tritici etwa 4½ Jahre auf 2 % Malzagar, dann vor der Infektion auf:	K %	Infektion
Nährlösung (45 Tage)	10,0	keine
Stroh (45 Tage)	39,1	mittel
Stroh (67 Tage), dann Nährlösung (45 Tage)	10,0	keine
Stroh (67 Tage), dann nochmals Stroh (45 Tage)	29,5	schwach-mittel
nicht infiziert	12,5	
Grenzdifferenz 5 %	3,3	
Grenzdifferenz 1 %	4,3	

Diese Angaben bestätigen, daß die Vorkultur für den Parasitismus von großer Bedeutung ist. Die Pathogenität ist in manchen Fällen als labil anzusprechen; sie kann durch die Ernährung auf irgendeine Weise beeinflußt werden.

Summary

Cultures of fungi causing foot rot diseases of wheat (*Hendersonia aberrans* Petr., *Calonectria graminicola* [Berk. et Br.] Wr., *Ophiobolus herpotrichus* [Fr.] Sacc. and *Septoria tritici* Rob.) were tested upon their pathogenicity on wheat after cultivation on 2 % malt agar during four to six years. Cultivation on malt agar and on nutrient solution caused a heavy depression of the disease-index, while cultivation on wheat straw shows that the pathogenicity can be regenerated in full (except *S. tritici*).

This proves the great influence of nutrition on pathogenicity. In more detailed studies these questions will be discussed later on.

Literaturverzeichnis

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Verlag Birkhäuser, Basel, 681 S.

Zogg, H., 1951: Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. Phytopath. Z. **18**, 1, 1—54.

Instituto Agronômico, Campinas and Instituto Biológico, S. Paulo, Brazil

Bacterial halo blight of coffee in Brazil

By

A. S. Costa, J. Franco do Amaral, A. P. Viegas, D. M. Silva, C. G. Teixeira, and E. D. Pinheiro

With 3 figures

Table of Contents: I. Introduction. — II. Geographic distribution. — III. Economic importance. — IV. Host range. — V. Symptoms. — VI. Nature of halo blight. — VII. Experimental transmission. A. Transmission with inocula obtained directly from leaf lesions. B. Inoculations with pure cultures of the halo blight bacterium. C. Testing the influence of the wind in the transmission of halo blight. D. Viability of the halo blight bacterium in dried leaves. — VIII. Natural spread of coffee halo blight. — IX. Conditions that favor the disease. — X. Control. — XI. Discussion. — XII. Summary.

I. Introduction

A new disease of coffee plants (*Coffea arabica* L.) has been encountered in several regions of the state of São Paulo, Brazil. The disease was named "mancha aureolada" (halo blight) because one of its most conspicuous symptoms is the presence of necrotic lesions surrounded by a yellow halo in the leaves of the affected plants.

Since coffee is the most important crop in Brazil and bacterial diseases usually may inflict heavy losses, pathologists, plant quarantine officials, and growers became concerned about halo blight. A great deal of attention has been devoted to the new problem since the latter part of 1955, in an attempt to determine whether coffee halo blight might become a major disease of this crop.

Studies on halo blight are being carried out cooperatively by plant pathologists of the Instituto Biológico, São Paulo and Instituto Agronômico, Campinas. The present paper concerns the preliminary work that has been done. Its purpose is to report some of the facts already known on coffee halo blight and to call the attention of pathologists from other coffee growing countries to the disease, since it may also be present and have escaped oberservation in other areas.

II. Geographic distribution

Coffee halo blight was first observed in the latter part of 1955[1]), affecting plantings in Garça County and its neighborhood. The disease was present in several coffee farms of this area in varying degrees of severity. In the beginning it was thought that halo blight in the Garça region represented the outbreak of a new disease for the state. Further observations, however, indicated that halo blight occurred in many other areas situated far apart in the state, thereby indicating that the disease had been present in São Paulo for quite a while and just went unnoticed.

Besides Garça, halo blight has been recorded in the following counties of the state of São Paulo: Botucatu, Cabreúva, Campinas, Dous Córregos, Duartina, Pinhal, São Carlos, São Manuel, and Torrinha. A thorough survey of the coffee growing regions of the state has not been made yet, but it is very likely that the disease will be found in many other areas. It is of particular interest to find out whether halo blight is present in the Southern areas of São Paulo and in Northern Paraná.

III. Economic importance

Halo blight outbreaks have been more serious in young coffee plantings than in old ones. This fact was recorded in several farms where old and new plantings were growing not far apart. Also, in old plantings that had been interplanted with young seedlings, halo blight was more severe on these than on the old plants.

It is undeniable that halo blight was causing severe losses in some new plantings in Garça and other areas in the end of 1955 and beginning of 1956. The losses caused by the disease consisted mostly in the drop of a great number of leaves from the affected plants or in the reduction of the green leaf areas because of the large, yellow and necrotic spots formed in affected leaves. It must be considered that losses from halo blight may occur in the spring and summer, when physiological activities in the leaves are at a peak. Death of the upper end of some twigs and bad setting of fruit may occur in plants severely affected by halo blight. A severe attack of the disease causes losses comparable to those inflicted by a medium strong frost.

Since there are indications that halo blight has been present in São Paulo for some time and since the disease has gone unnoticed before, it is to be presumed that its attacks in the past have not been so severe as they were in the end of 1955 and beginning of 1956. Halo blight is, however, a potential menace for new coffee plantings. It might become a factor in deterring the upsurge towards planting new coffee groves that has been noticed among growers in São Paulo.

[1]) Halo blight was first recognized as a disease distinct from others that usually affect the coffee plant by Dr. J. Laraya, a grower whose planting in Garça County was severely affected.

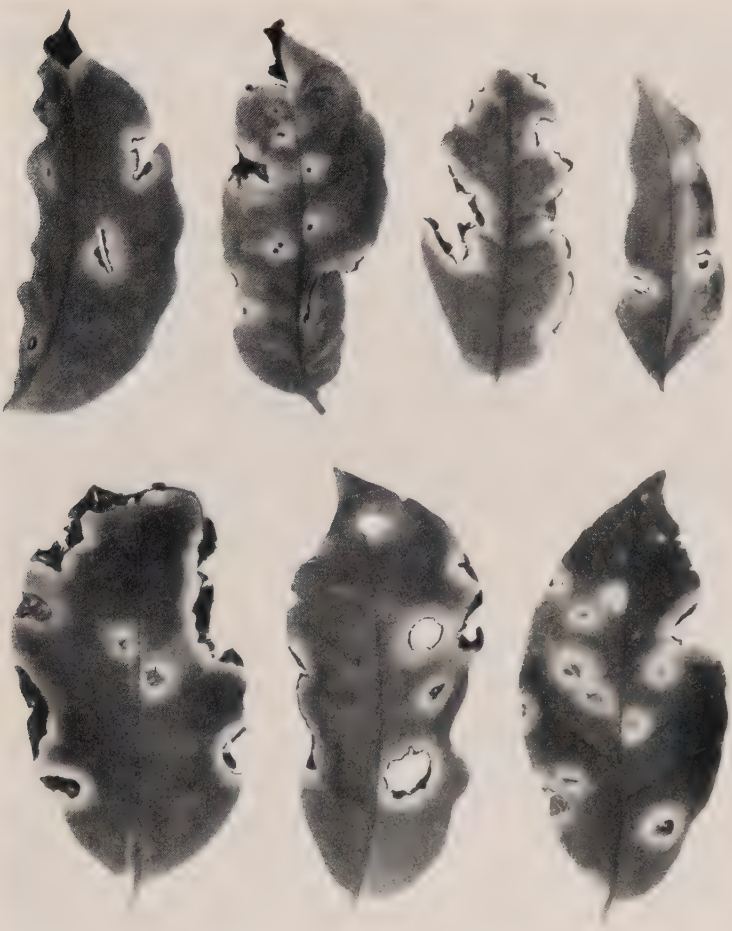


Fig. 1. Coffee leaves showing various types of lesions caused by the halo blight bacteria

IV. Host range

Halo blight has been recorded affecting all commercial varieties of coffee in São Paulo. Its attacks have been found in plantings of Mundo Novo, Yellow Bourbon, Red Bourbon, and Caturra. At the Botucatu Agr. Exp. Sta., halo blight was recorded on the following varieties: Murta, Laurina, Maragogipe, Mundo Novo, Yellow Bourbon, and Red Bourbon. At the same station, observations were made on a coffee progeny test that had been moderately attacked by halo blight[2]). The records taken on April 6, 1956 indicated that there were some differences in susceptibility among the coffee types under test. Yellow Caturra, followed by Red

2) The authors are indebted to Dr. Ruy Figueiredo Melo, Head, Botucatu, Agr. Exp. Sta., for permitting the records to be taken and for helping to gather them.

Caturra, were significantly more resistant than progenies of other varieties. Red Bourbon and Mundo Novo were rather susceptible, and Yellow Bourbon was the most susceptible of all. That Caturra plants are more resistant to halo blight than Bourbon types was observed in another planting where individuals of both varieties occurred in the same hills. Halo blight was always more severe on the Bourbon plants than on the Caturra ones.

When coffee varieties were inoculated artificially by means of injections, differences in susceptibility practically disappeared. This is not entirely surprising, since resistance might be correlated to some external characteristic of the leaf and the inoculation by injection would overcome this barrier.

A number of *Coffea* species and many varieties of *C. arabica* were infected with halo blight in the greenhouse by means of injections. Also, halo blight was inoculated successfully in a number of species from other families, such as *Leguminosae, Solanaceae, Malvaceae,* etc. Observation of weeds and cover crops growing in infested coffee plantings failed so far to disclose other field susceptible species. A list of the coffee types and other species that developed halo blight lesions is in table 1.

Table 1

List of plant species infected by the coffee halo blight bacterium in the inoculation tests carried out in the greenhouse

Species or variety	Plants		Species or variety	Plants	
	inoc.	infec.		inoc.	infec.
RUBIACEAE			*LEGUMINOSAE*		
Coffea arabica			*Cajanus cajan* (L.) Millsp.	6	6
Amarelo de Botucatu	2	2	*Canavalia ensiformis* (L.) DC.	12	6
Yellow Burbon	2	2	*Crotalaria juncea* L.	11	6
Red Bourbon	2	2	*C. paulinia*	4	4
Yellow Caturra	2	2	*C. spectabilis* Roth.	6	6
Red Caturra	2	2	*Dolichos lablab* L.	8	8
Cera	2	2	*Glycine max.* (L.) Merr.	4	4
Laurina	2	2	*Lupinus albus* L.	4	3
Maragogipe A. D.	2	2	*Phaseolus vulgaris* L.	58	57
Yellow Maragogipe	2	2	*Vigna sinensis* (L.) Endl.	50	36
Red Maragogipe	2	2			
Mundo novo	2	2	*SOLANACEAE*		
Murta	2	2	*Lycopersicon esculentum* Mill.	10	10
Polysperma	2	2	*Nicotiana tabacum* L.	35	?
Purpurascens	2	2	*Physalis floridiana*	2	2
Semperflorens	2	2	*Solanum tuberosum* L.	2	2
Terra Roxa (387)	2	2			
C. Bukobensis Zimmerm.	2	2	*MALVACEAE*		
C. canephora Pierre	2	2	*Gossypium hirsutum* L.	23	23
C. congensis Froehner	2	2	*Hibiscus esculentus* L.	5	5
C. Dewevrei De Wild. et Th. Dur.	2	2			
CHENOPODIACEAE					
Chenopodium amaranticolor Coste & Reyn.	3	3			

V. Symptoms

Outbreaks of halo blight were found almost exclusively in new coffee plantings. Young, vigorously growing plants are most likely to be affected than slow growing ones. When the disease is found affecting old plants, it appears mostly in leaves on branches that are growing vigorously.

Fig. 2. Two-and-half-year old coffee planting in Garça County where halo blight was most severe. A. Defoliated diseased plants. B. Comparable plants in the same planting that were not affected by halo blight

Halo blight has already been found affecting coffee seedlings in seed beds, plants in sheet wood cylinders ("laminados"), and plants recently set

in the field. Two to 5-year old field plants seem to be at the most susceptible stage.

The most characteristic symptom of halo blight is the presence of light or dark brown, necrotic spots surrounded by a diffuse yellow halo in the leaves of affected plants. The necrotic center of the lesion may be a few millimeters to 1.5 cm in diameter and the surrounding halo may be up to 1 cm wide. Halo blight spots may be present in young leaves, in leaves that are half grown, and in mature leaves. It seems, however, that most of the lesions are formed while the leaves are still expanding. Although halo blight lesions appear in any area of the leaf, there is a tendency for the lesions to occur in great numbers near the margins. At times, the necrotic tissues of halo blight lesions are shed resulting in shot hole or perforation.

The observation of halo blight lesions in leaves of field affected plants indicated that a great number of them were initiated in wounds resulting from various types of injury. Most of these lesions are suggestive of the friction or scratching induced by winds, but some are the result of insect damage. Under certain conditions, the new, developing halo blight lesions appear oilsoaked, later turning black, necrotic. The oilsoaked appearance of the developing lesion was more noticeable during the winter than in the summer.

Growth and coalescence of halo blight lesions result in the death of large areas of the leaves. Such leaves are almost invariably dropped. In addition, in case of severe attacks, tip blight of the upper end of many branches might occur. A necrotic degeneration of young coffee fruits was noticed in branches severely affected by the disease.

When environmental conditions become unfavorable for the disease, the new leaves formed by the affected plants may escape infection. Infection of the young leaves may occur again if conditions become favorable.

VI. Nature of coffee halo blight

It has been established conclusively that coffee halo blight is a bacterial disease. A bacterium has been isolated repeatedly from halo blight lesions, and when a pure culture of the organism was inoculated in the leaves of coffee plants growing in the greenhouse it induced typical halo blight lesions. Reisolations made from the lesions obtained by artificial inoculation produced the original bacterium.

Cultural and physiological studies made with the coffee halo blight bacterium have shown that it belongs to the genus *Pseudomonas*. The coffee organism produces a toxin very similar to that of *Ps. tabaci* (Wolf & Forster) Stevens. The effect of this toxin on a number of plants resembles that of *Ps. tabaci*, and bean plants were also highly sensitive to it. The coffee bacterium is also capable of infecting some leguminous plants, as do strains of *Ps. tabaci*. A detailed account of the studies on the coffee bacterium will be published elsewhere.

Fig. 3. Defoliation following a severe attack of halo blight. A. Seedlings about 1 year old. B. Two-year-old seedlings. C. Close-up of defoliated branches

VII. Experimental transmission

A. Transmission with inocula obtained directly from leaf lesions

Even before the coffee halo blight bacterium had been isolated, a series of tests were carried out to determine the factors involved in reproducing

the disease with inoculum obtained directly from the lesions. For these tests, halo blight lesions were punched out from the diseased coffee leaves with a cork borer and the disks thus obtained were crushed in a mortar in presence of water. The suspensions obtained after straining the material through cheesecloth were used as inoculum.

Four methods of applying the inoculum were compared: 1. rubbing it on the carborundum-sprinkled leaves of the test plants; 2. injecting it in the leaves by means of a hypodermic syringe; 3. scratching the leaves with a group of four needles mounted together and dipped frequently in the inoculum; 4. puncturing the leaves with the same group of needles dipped in the inoculum.

After inoculation the test plants were placed in a moist chamber for 48 hours and were then taken to the greenhouse. Since a regular moist chamber was not available, a high moisture atmosphere was obtained inside a cheese cloth covered frame by letting water drip on a metal plate from about 1.5 m high and thus splash on the test plants. The results of four tests are in table 2. They show without doubt that best transmission was obtained by injecting the inoculum in the leaves; the inoculation by needle scratches was also very effective. Results from needle pricks were rather poor and those from rubbing with carborundum were mostly negative.

Table 2

Results of tests on the transmission of coffee halo blight with inoculum from the leaf lesions

Test No.	Number of leaves inoculated and infected when the inoculum was applied by one of the indicated methods							
	Rubbing with carborundum		Injection with a hypodermic syringe		Needle scratches		Needle punctures	
	inoc.	infec.	inoc.	infec.	inoc.	infec.	inoc.	infec.
1	20	1	20	20	20	20	20	4
2	16	2	16	16	16	14	16	12
3	16	3	16	16	16	16	16	9
4	16	2	16	16	16	10	16	8

B. Inoculation with pure cultures of the halo blight bacterium

In the early inoculations made with pure cultures of the coffee halo blight organism, the bacteria growing in potato-dextrose broth were diluted about ten times with water and used to inject test plants. It was soon verified that practically all coffee plants and other species thus inoculated reacted with formation of a halo around the point of injection, a fact that had been observed previously in inoculations with *Pseudomonas tabaci* (5), and ascribed to the effects of its toxin. Later inoculations with the coffee organism were made with suspensions of the bacteria washed free from the

accompanying toxin. In this case, cultures in potato-dextrose broth were diluxed 1 to 10 in water and centrifuged three times with change of water before they were used for inoculation. Two or three centrifugations were considered sufficient to free froth cultures of *Ps. tabaci* from its toxin (3, 4, 5).

Reproduction of halo blight lesions with pure cultures of the pathogene was obtained easily when the washed suspensions of the bacteria were injected in the leaf tissues by means of a hypodermic syringe. On the contrary, lesions were practically never formed when leaves from comparable plants were sprayed with the same bacterial suspensions. Even when a few lesions resulted from this method of inoculation, it is believed that they may have originated in abrasions or in other mechanical injuries. Results of early tests on halo blight transmission with pure cultures of the bacterium are in table 3.

Table 3

Results of tests on the transmission of coffee halo blight with pure culture suspensions of the causal organism

Test No.	Number of leaves infected out of 24 that were inoculated by one of the indicated methods			
	Rubbing and carborundum	Spraying	Injection (hypodermic syringe)	Needle scratches
1	0	2a)	24	24
2	0	0	24	24
3	2	1	24	24

a) More than 24 leaves were inoculated by spraying, but only those corresponding to the other treatments were recorded.

Infection of tobacco leaves with *Pseudomonas tabaci* was easier when bacterial suspensions were sprayed on leaves that had been watersoaked (5, 8). Watersoaking was also an important requirement in case of infection of soybean leaves by *Ps. tabaci* (9), and forced watersoaking was more effective than physiological. Attempts were made to verify whether a similar situation existed in case of coffee halo blight. In a first test leaves of coffee test plants were watersoaked by means of a hypodermic syringe. Washed bacterial suspensions of the 3-day old halo blight organism were then sprayed on the treated and control plants (non-watersoaked) and care was exercised so that the underside of the leaves[3]) received the inoculum. The plants thus inoculated were then kept for 48 hours in a moist chamber and afterwards placed in the greenhouse. A great number of pin point, oilsoaked areas appeared about eight days after inoculation in the leaves that had been watersoaked. They turned black, necrotic, one or two days later. These leaves showed some epinasty and were mostly dropped. No

3) In case of coffee plants, stomata are present only on the underside of leaves.

lesions were formed in the control plants that had been sprayed with the bacterial suspension without the previous watersoaking.

In other tests, watersoaking of the leaves of the coffee plants was performed by spraying their underside with water at high pressure. A washed bacterial suspension of the coffee halo blight organism was later atomized on the watersoaked leaves and on those of the control plants, after which they were kept in the moisture chamber for 48 hours. It took a longer time for the lesions to appear in the watersoaked leaves than in those of the experiment previously described. The number of lesions per leaf was also smaller, but the symptoms resembled more closely those observed in field plants. Leaves not watersoaked did not show lesions. The results of these tetst are in table 4.

Table 4

Results of tests to determine the influence of the wind and watersoaking on the infection of coffee leaves by the halo blight bacterium

Test No.	Number of leaves inoculated and infected when washed suspensions of the organism were applied on the test plants by one of the following methods					
	Spraying		Spraying and fan blowing		Spraying after watersoaking	
	inoc.	infec.	inoc.	infec.	inoc.	infec.
1	24	0	24	24 a)	—	—
2	24	2	24	24 a)	—	—
3	24	0	24	24 a)	—	—
4	24	0	—	—	24	20 b)
5	24	2	—	—	24	10 b)
6	24	1	—	—	24	17 b)

a) Not many lesions were formed in the leaves of these plants, but some were present in most of the upper ones.

b) Not all watersoaked leaves showed lesions, but those that did usually had a great number of them.

As in case of inoculations with *Pseudomonas tabaci*, reported by several authors, the formation of a halo around the site of inoculation (by injection) in coffee leaves occurred in two or three days when unwashed, diluted broth cultures were used. When the washed bacteria were injected, although necrosis occurred rapidly, it took from five to eight days for the halo to appear. In watersoaked leaves that were sprayed with the washed bacteria it generally took longer for the halo to form.

C. Testing the influence of the wind in the transmission of halo blight

The influence of the wind in the production of mechanical wounds in the leaves of coffee plants, thereby favoring the infection by the halo blight bacterium, was tested experimentally. Ten coffee plants were uniformily

sprayed with a suspension of the halo blight organism. The plants were then placed inside a moist chamber in two groups of five plants each. They remained in the moist chamber for 48 hours an during this time one of the groups was blown with a fan for four periods of three hours. Since the plants had ben arranged in such a way that the top growth was touching one another as do plants of the same hill in the field, friction between leaves and some scratching occurred when they were shaken by the air current. Halo blight lesions appeared in small numbers in the leaves of all five plants that had been blown by the fan and in none of the controls. This experiment was repeated three times and gave similar results. They are included in table 4.

D. Viability of the halo blight bacteria in dried leaves

Leaves bearing halo blight lesions were air dried in the laboratory. Inoculations were then performed with tissue from lesions taken from the leaves at 1, 30, 60, and 90-day intervals after drying was started. The lesions were punched out, crushed in water, strained; the liquid obtained was inoculated by injection in the leaves of coffee test plants. Numerous lesions were obtained with inoculum from leaves that had been drying for one day; bacteria were still fairly viable in leaves dried for 30 days, and a few lesions were obtained with inocula prepared from leaves dried for 60 and 90 days. Further results have not become available yet.

VIII. Natural spread of coffee halo blight

Nothing is known yet on how the halo blight bacterium gains access to new coffee plantings, set in recently cleared land. Various explanations could be advanced: 1. the halo blight bacterium may be carried in by the wind from a distant infected source; 2. since the halo blight organism may infect several legume plants, some of which are used as cover crops for coffee, it is possible that the bacteria were introduced on the seeds of a susceptible cover crop. It should be noted in this connection that *Pseudomonas tabaci* is transmitted through the seeds of the soybean (7); 3. it is possible that the halo blight bacterium may also be capable of living in association with the roots of crop plants as it was reported for *Ps. tabaci* (6), or even in association with roots of native plants, and then pass from these onto the coffee plants; 4. halo blight was recorded in commercial coffee nurseries, and nursery plants offered for sale are, therefore, a possible source whereby the disease may invade a new area.

Once a planting becomes affected, it is likely that the infected coffee leaves that remain attached on the trees throughout the winter season may supply the inoculum for the new vegetation formed in the spring.

Bacterial exudates were not observed in case of halo blight, but large bacterial pockets were formed in the leaf tissues. It is not known how the bacteria pass from the lesions to the sites where new courts of infection

are started. Bacteria in the infected coffee tissues, however, probably constitute the main source of inoculum for the secondary cycles of the disease.

IX. Conditions that favor the disease

Coffee halo blight is more prevalent in young, vigorous coffee plantings than in old ones. Also, young growing leaves are more easily infected than mature ones. In general, conditions that favor vigorous plant growth seem to increase its susceptibility to the disease. Whether this fact results from physical or physiological characteristics, or both, is not known yet.

In a coffee fertilizer experiment planted at the Botucatu Exp. Sta. which had been attacked by halo blight, records of the disease indicated the following effects of the treatments: 1. potassium seems to have increased susceptibility following a straight line; 2. phosphorus increased resistance; 3. nitrogen did not have an apparent effect either way. These results, however, were not confirmed in another test in which large dosages of phosphorus and potassium were applied to diseased plants without promoting any difference in response. Since the fertilizers in this instance were applied only four months before the observations were made, it might be argued that it might be necessary to wait longer for the effects of these elements to become recognizable.

Outbreak of coffee halo blight are generally more severe and more prevalent in the higher places of all plantings that have been surveyed. This result is assumed to be a consequence from the fact that such higher places are usually the ones most subjected to the blasts of the prevailing winds. In a 2-year old coffee planting in Pinhal, growing on the top and one the side of a hill, the disease was severe near the top and practically absent farther down. This situation was also observed in Garça and in other infested places where plantings had been made on the sides of a hill. These observations are now easily understood because the areas mostly exposed to the winds are those where wounding of the leaves in windy weather and watersoaking of the leaf tissues during rain storms are most likely to occur.

In September 1955 and January 1956, exceptionally hot weather, a few degrees above the average for the season, prevailed. It was thought that the outbreaks of coffee halo blight might have been favored by these high temperatures. Also, inoculations made under conditions of greenhouse (warmer) and outside it, indicated that the disease was more severe under high temperatures. Consequently, it was expected that halo blight would possibly disappear during the cold weather. Although this occurred to a large extent, attacks of these disease in a coffee planting in Garça were somewhat worse in May, when the temperature had already dropped considerably, than one or two months before.

Most of the coffee plantings that were first surveyed and found affected by halo blight were growing in sandy soil. It was then thought that the disease might not occur in other types of soils, but further surveys showed that this was not the case. Halo blight has now been found in coffee groves planted in all common types of soils in the state São Paulo.

X. Control

Control of coffee halo blight seems to be a rather tough problem at present. Since factors that promote good plant growth favor the disease and cannot be avoided, its control has to rely mostly on the protection of the plant against infection.

It is obvious that the development of resistant varieties will be highly desirable, but since coffee is a perennial crop, control measures for the extensive plantings already in existence might become necessary.

Protection of coffee plantings against prevailing winds would probably help to decrease infection by halo blight. This could be accomplished by selecting sites not exposed to strong winds and would probably mean to plant in low areas. In this case the risk of having the plantings injured by frost would be greater. Growing windbreaks in advance to the planting of the coffee groves or leaving strips of the forest to serve as windbreaks would probably be of great help in minimizing the adverse effects of the wind.

For coffee plantings already in the field, control of halo blight will have to depend on the application of protectants, on the use of antibiotics or bacteriophages, or in the treatment of the plants, so as to make them more resistant to the disease.

A number of treatments are being compared for the control of halo blight in a farm where the disease has been most severe. The effects of heavy dose of N, P, and K, alone or combined, of mulching, application of microelements, including iron sequestrants, are being tested. No favorable effects of these treatments were observed until four months after they had been applied.

Fifteen different commercial fungicides have been compared in spraying tests for the control of coffee halo blight. The fungicide applications were made every five days, being renewed in case of rain. None of the treatments induced a good response until two months after they were started, although two copper fungicides seemed to be offering a small degree of protection. This effect, however, was not such as to be of practical value.

Two commercial antibiotics, Phytomycin (streptomycin) and Agrimycin 100 (a mixture of streptomycin and terramycin) have been tested for the control of the disease. *In vitro*, the coffee organism was very sensitive to streptomycin, no bacterial growth occurring in presence of concentrations as low as 1 ppm of this antibiotic.

Solutions of 100, 200, 400, and 800 ppm of the active substances in Phytomycin and Agrimycin 100 were tested for the control of coffee halo blight on greenhouse test plants. Seven applications by spraying were made within a period of nine days. One day after the last application, inoculation of the plants with bacterial suspensions was made by injection. Except for the highest concentration of the two antibiotics, practically no reduction in the size of the necrotic lesions caused by the bacteria was noticed when they were compared with the controls. At the highest concentration, both

types of antibiotics had a phytoxic effect on the coffee plants, inducing a general yellowing of the young leaves.

In another greenhouse test, potted coffee plants were sprayed five times with solutions of 400 ppm of Phytomycin and Agrimycin 100, separately, each with and without 1 per cent glycerol. Also, leaves on a set of plants were injected once with the same antibiotics two days prior to inoculation. The inoculation of the test plants was performed by injection of bacterial suspensions with a hypodermic syringe. A slight favorable response from the spraying treatments was noticed when they were compared with the controls, but there was apparently no difference between the treatments with and without glycerol. The antibiotic effect was more noticeable in the plants that had been injected with the antibiotics prior to inoculation.

In field tests, both Phytomycin and Agrimycin 100 at 400 ppm plus 1 per cent glycerol have been applied at 5-day intervals on coffee plants located in an area where halo blight has been prevalent. Practically no favorable effect from the treatments has been observed, although more than twelve applications were made.

XI. Discussion

Since coffee halo blight was recorded within a short time in several areas located far apart, it follows that the disease must have been present in the state of São Paulo for quite a while. Because it escaped attention in past years, it is presumed that the damage caused was not severe, although the losses resulting from the disease in 1955 to 1956 were appreciable. A reasonable estimate of the economic importance of coffee halo blight will thus be possible only after the disease has been under observation for a few years.

Invasion of host plant leaves by some bacteria is greatly enhanced when an abrasive like carborundum is used in the inoculation (1). This was found to be true in case of *Pseudomonas ribicola* Bohn and Maloit on *Ribes aureum* Pursh (2) and in case of *Pseudomonas phaseolicola* Dowson and *Xanthomonas phaseoli* (EFS) Dowson on bean plants (1). One of the present authors has had excellent results with carborundum in the inoculation of the angular leaf spot bacterium, *X. malvacearum* (EFS) Dowson, on cotton plants and also in the inoculation of a bacterium supposed to be *X. phaseoli* on bean. On the other hand, infection of coffee leaves by halo blight was not helped when carborundum was used for rubbing either side of the leaves with suspensions of the pathogen, although a certain type of wounding seems to be an important factor in helping infection in case of this disease. These facts suggest that at least two different situations might be encountered in relation to wounding and ingress and establishment of bacteria in the host's tissues. In one case superficial wounding as effected by carborundum helps greatly, thus indicating that the organism can invade the host when placed in the outer tissues. In the other instance, establishment of the bacteria seem to depend on a deeper type of wounding.

Differences between the outer and inner tissues of the leaf, such as presence of intercellular spaces, proximity to conducting tissues, pH gradient, etc., could perhaps be responsible for the two types of behavior.

When the coffee halo blight bacterium was sprayed on coffee seedlings, infection never or very seldom occured, in spite of the plants having been kept in a moist chamber for at least 48 hours. Comparable plants sprayed with the same suspensions developed lesions when wounding of the leaves was promoted. Also, leaves which were watersoaked developed lesions in absence of wounding.

Watersoaking of coffee leaves was much more difficult to obtain than in case of succulent plants. In the same coffee plant, the young leaves were more difficult to watersoak than the old ones. Penetration of the bacteria through the stomata in the field will probably be dependent on violent rain storms that may induce watersoaking. Field observations and inoculation tests indicate, however, that most of the natural infection might result from the ingress of the bacteria in the coffee leaves through wounds. Furthermore, injure of the leaf tissues has to be rather deep to facilitate establishment of the organism, since the slight wounding as obtained with carborundum was ineffective.

The fact that the friction and scratching of leaves produced by air blowing was enough to help infection of coffee plants with halo blight is strong evidence in favor of the view that wind currents are an important factor in favoring halo blight infection in the field. It must be considered that the air draft generated by a fan is weak compared with winds and probably much less efficient in causing wounds to the leaves.

Halo blight is more severe in vigorous plantings than in the slow growing ones. Also leaves that are expanding rapidly were more susceptible to infection than leaves already developed. This might be interpreted as indicating that young expanding leaves are in a physiological state that makes them more susceptible or that they are more easily injured than older leaves.

The coffee halo blight bacterium is a species of *Pseudomonas* that has many properties similar to those of *Ps. tabaci*. It produces a toxin whose effects are similar to those of the toxin from *Ps. tabaci*. The ingress of the coffee bacteria through stomata seems to be conditioned by the same factors that are also operative in case of the tobacco bacterium. These facts have led the writers to consider the species of *Pseudomonas* from coffee as somewhat related to *Ps. tabaci*, although differences in cultural and physiological reactions were found, and tobacco plants could not be proven to be susceptible to the coffee bacterium. The possibility that the coffee bacterium represents a mutant from a species normally occurring on legume plants, such as from *Ps. phaseolicola*, also deserves consideration.

Halo blight has already been recorded in coffee nurseries in sheltered places, such as under trees or under bamboo covers. The young seedlings are protected against the wind, and it must be postulated that under such conditions penetration of the bacteria must occur through the stomata in

leaves that have been watersoaked, or else, that some insects might be instrumental in promoting the wounding for the bacterial penetration or in introducing them directly in the leaf tissues.

Progenies of Yellow and Red Caturra were apparently more resistant to halo blight than progenies of other varieties. Caturra plants are shorter or sturdier than plants of other varieties, and have coarser leaves. The low size of the plants probably makes them less flexible and thus minimizes the effects of the wind in causing friction of the leaves, and consequently reduces the wounding that favors the ingress of the halo blight bacteria. Since Caturra leaves are also coarser than those of other varieties, this characteristic might make them more resistant to mechanical injury. The observation made in Mundo Novo plantings that plants with coarser leaves, resembling polyploids, are more resistant than normal plants supports this view. It should be noticed, however, that polyploid coffee plants, as those of many other species, have a smaller number of stomata per area of leaf and larger stoma openings than regular diploid plants (10). These characteristics could be of importance in relation to infection by bacteria that may ingress in the plant through the stomata.

XII. Summary

A new bacterial halo blight disease of coffee plants is described. The disease is more prevalent in young plantings than in older ones, and occurs mostly in areas subject to strong winds. The losses caused by halo blight in some young coffee plantings were important in 1955 to 1956. It is presumed that the disease has been present in São Paulo for some time and that the losses inflicted in past years have been small.

So far only varieties of *Coffea arabica* were found naturally affected by the disease. Several other species of the genus, as well as representatives of *Leguminosae*, *Solanaceae*, and from other families were infected in transmission tests. Among the commercial varieties of *Coffea arabica*, Yellow and Red Caturra seemed to possess some field resistance to halo blight when compared with Red Bourbon and Mundo Novo. Yellow Bourbon was the most susceptible variety.

The halo blight bacterium is a species of *Pseudomonas*. Its behavior as a pathogen is similar in many respects to that of *Ps. tabaci*, although differences between the two bacteria were found. The coffee halo blight bacterium also forms a toxins that produces on many plants effects that are similar to those caused by the toxin of the tobacco organism.

Reproduction of halo blight on greenhouse plants was obtained easily by injecting their leaves with inocula from the lesions or with bacterial suspensions. Inoculation by spraying was mostly unsuccessful. However, halo blight lesions were formed when test plants sprayed with bacterial suspensions were blown with a fan that induced friction between leaves. Also, preinoculation watersoaking of the leaves permitted ingress of the coffee bacterium through stomatal openings. Observations and experimental

evidence suggest that mechanical injuries resulting from the indirect action of the wind are the main portals of entry for the coffee halo blight organism.

The halo blight bacterium was still viable in dried coffee leaves after 90 days. Affected coffee leaves that remain on the tree are supposed to be one of the main sources of inoculum for the new growth in the spring.

Observations made in a fertilizer test indicated that potassium apparently increased susceptibility of coffee plants to halo blight; phosphorus decreased it, and nitrogen had no effect.

Streptomycin had a strong antibiotic effect on the halo blight bacterium in vitro; on greenhouse plants sprayed with Phytomycin and Agrimycin 100 and subsequently inoculated, the effect of the two antibiotics was slight; applied to field plants, they had practically no effect on the control of the disease.

From 15 commercial fungicide preparations that were tested for the control of halo blight in the field, only two copper compounds showed a slight protective action.

Zusammenfassung

Eine Bakterienkrankheit der Kaffeepflanzen in Brasilien

Eine neue (halo blight) Bakterienkrankheit der Kaffeepflanze (*Coffea arabica* L.) wurde in verschiedenen Gegenden des brasilianischen Staates São Paulo beobachtet. Junge, schnell wachsende Kaffeepflanzen sind besonders empfindlich. Die Krankheit tritt häufiger in stark windigen Gebieten auf, da die durch Reibung im Wind entstehenden Blattwunden eine der wichtigsten Eintrittspforten für die Bakterien sind.

Feldbeobachtungen zeigten, daß alle wirtschaftlich wichtigen Sorten von *Coffea arabica* von der Krankheit befallen werden. Gelb- und Rotcaturra waren etwas widerstandsfähiger als Rotbourbon und Mundo Novo. Gelbbourbon war die empfindlichste dieser fünf erwähnten Sorten. Impfungsversuche im Gewächshaus zeigten, daß auch andere Arten der Gattung Coffea sowie Vertreter der Leguminosen, Solanaceen und anderer Familien angesteckt werden können.

Der (halo blight) Erreger ist ein Bakterium der Gattung Pseudomonas. Sein pathogenes Verhalten ist dem des *Pseudomonas tabaci* sehr ähnlich; er unterscheidet sich aber sowohl durch physiologische Merkmale wie auch durch sein Verhalten in der Kultur von dieser Art. Aber wie *Pseudomonas tabaci* erzeugt er ein Toxin mit ähnlicher Wirkung auf verschiedene Pflanzen.

Übertragungen der Kaffeekrankheit durch Einspritzung mit Inocula der Blattlesionen oder mit Bakteriensuspensionen waren erfolgreich, während Übertragungsversuche mit Bespritzung meistens negativ ausfielen. Wenn die mit Inocula bespritzten Versuchspflanzen jedoch mit einem Ventilator angeblasen wurden, was Reibungswunden an den Blättern verursachte, stellten sich Krankheitssymptome ein. Infektionen der Versuchspflanzen waren eben-

falls möglich, wenn man die Blätter vor dem Bespritzen mit Inocula künstlich mit Wasser vollsaugen ließ.

Aus Kaffeeblättern, welche Bakterienflecke zeigten, ließ sich der Erreger noch nach 90tägiger Eintrocknung im Labor isolieren. Da die Krankheit auch bei einem Düngungsversuch spontan auftrat, konnte man beobachten, daß Kali die Empfindlichkeit der Pflanzen erhöht, Phosphor sie herabsetzt und Stickstoff keinen Einfluß ausübt. Streptomycin hatte eine starke antibiotische Wirkung auf die Kaffeebakterien in vitro. Bei Gewächshausversuchen war die Wirkung der Antibiotica Phytomycin und Agrimycin 100 sehr gering. Beide Präparate hatten unter Feldbedingungen keine Wirkung auf die Pflanzen. 15 Spritzmittel wurden in Bekämpfungsversuchen miteinander verglichen. Dabei zeigten nur zwei Kupferpräparate eine einigermaßen günstige Wirkung.

Literature cited

1. Allington, William B., 1945: Wildfire disease of soybeans. Phytopathology **35**, 857—869.
2. Bohn, G. W., and Maloit, J. C., 1945: Inoculation experiments with *Pseudomonas ribicola*. Phytopathology **35**, 1008—1016.
3. — —, and — —, 1947: The effects of carborundum in inoculating bean plants with bacteria. Phytopathology **37**, 196—198.
4. Chamberlain, Donald W., 1956: Methods of inoculation for wildfire of soybeans and the effect of bacterial pustule on wildfire development. Phytopathology **46**, 96—98.
5. Clayton, E. E., 1934: Toxin produced by *Bacterium tabacum* and its relation to host range. J. agric. Res. **48**, 411—426.
6. — —, 1936: Water soaking of leaves in relation to development of the wild fire disease of tobacco. J. agric. Res. **52**, 239—269.
7. Franco, Coaracy M., 1939: Relation between chromosome number and stomata in *Coffea*. Botanical Gazette **100**, 817—827.
8. Graham, J. H., 1953: Overwintering of three bacterial pathogens of soybean. Phytopathology **43**, 189—192.
9. Johnson, James, 1937: Relation of watersoaked tissues to infection by *Bacterium angulatum* and *Bact. tabacum* and other organisms. J. agric. Res. **55**, 599—618.
10. Valleau, W. D., Johnson, E. M., and Diachum, S., 1942: Association of tobacco leafspot bacteria with roots of crop plants. Science **96**, 164.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

Über Nebenfruchtformen bei *Tryblidiella hysterina* (Duf.) Shear.

Von

Gabriele Baumeister

Mit 3 Abbildungen

Eine Beschreibung von Nebenfruchtformen bei Arten der Ascomycetengattung *Tryblidiella* Sacc.[1]) wurde erstmalig von Shear (1933) veröffentlicht. Er erhielt auf künstlichen Nährböden Nebenfruchtformen von *Tryblidiella Leprieuri* (Mont.) Sacc., *Tryblidiella rufula* (Spreng.) Sacc. und *Tryblidiella hysterina* (Duf.) Shear. Die letztgenannte Art wurde von *Ilex vomitoria* Ait. isoliert. Voorhees (1939) erweiterte die Zahl der untersuchten Arten um *Tryblidiella fusca* (Ellis u. Ev.) Rehm, die er in Vergleich zu *Tryblidiella rufula* (Spreng.) Sacc. setzt. Die Ergebnisse beider Autoren zeigen in Bezug auf die Nebenfruchtformen zahlreiche Übereinstimmungen. Es wurden zwei Typen von Nebenfruchtformen gefunden:

1. Mikropyknosporen, auf kurzen Konidienträgern im Inneren der Fruchtkörper,
2. Makropyknosporen vom *Diplodia*-Typ.

Shear bemühte sich, eine Beziehung dieser *Diplodia*-Formen zu bereits bekannten Pilzen dieser Imperfekten-Gattung herzustellen und führte *Diplodia theobromae* (Pat.) Nov., *Diplodia mori* Westd., *Diplodia alni* Fuckel und *Diplodia vulgaris* Lev. an. Voorhees (1939) kann auf Grund seiner Ergebnisse die von Shear als möglich angebenen Identitäten nicht bestätigen. Er verzichtet auf jeglichen Versuch, die gefundenen Nebenfruchtformen zu bestimmen, und beschränkt sich lediglich auf ihre Beschreibung.

Die Aufgabe dieser Arbeit soll sein, die Verhältnisse bei *Tryblidiella hysterina* (Duf.) Shear (isoliert von *Buxus sempervirens* L.) zu klären.

Nomenklatur:

Der korrekte Name des Ascus-Pilzes war längere Zeit umstritten. Dufour (1828) beschrieb ihn unter dem Namen *Triblidium hysterinum*. In seiner Arbeit soll als Synonym „*hysterium elevatum* Pers." angegeben sein,

[1]) Petrak (Sydowia 5, 185—186, 1951) weist nach, daß die Auffassung älterer Autoren wie Rehm (1904) und Shear (1933), wonach *Tryblidiella* Sacc. mit *Rhyditthysterium* Speg. zusammenfalle, richtig ist, daß aber *Rhyditthysterium* die Priorität zukomme. Trotzdem verwende ich hier den eingeführten Gattungsnamen *Tryblidiella*, da mir der ganze damit zusammenhängende Fragenkomplex noch zu wenig geklärt erscheint.

unter Bezug auf eine Abbildung PERSOONS in seiner Mycologia Europaea (1822). Die Zeichnung läßt sich zwar in dem zitierten Buche unter den Angaben „Tab. 1, Fig. 4" finden, doch fehlen sowohl der Name wie auch jegliche Diagnose des Pilzes. SHEAR (1933) vermutet, daß DUFOUR diesen Namen einem Brief PERSOONS entnommen haben könnte, während durch irgendeinen Zufall der Name und die Beschreibung des Pilzes in dem betreffenden Buch ausgelassen worden seien. FRIES (1829) hat in seinem Index zur Systema Mycologicum *„Triblidium hysterinum* Dub. (*Phacidium hysterinum)*" verzeichnet, bringt diese Art aber im gleichen Index auch unter *„Phacidium hysterinum* Fr. (non Pers. Myc. Eur. 1, Tab. 1, Fig. 4)". Damit steht eindeutig fest, daß der bereits valid publizierte Name *Triblidium hysterinum* Duf. durch den Index von FRIES laut Artikel 23 des International Code of Botanical Nomenclature (1952) gültig bleibt. Da *Hysterium elevatum* Pers. ex Duf. durch DUBY (1830) legal veröffentlicht ist, muß dieser Name als Synonym gelten. DESMAZIERES (1831) bringt den Pilz als *Hysterographicum elevatum* (Pers.). Desm. SACCARDO (1883) bildet eine neue Gattung *„Tryblidiella"*, beläßt aber diese Art unter ihrem ursprünglichen Namen *Tryblidium hysterinum* Duf. weiterhin in der Gattung *Tryblidium*. REHM (1904) führt eine Revision der Gattungen durch, wobei er *Tryblidium hysterinum* Duf. der Gattung *Tryblidiella* Sacc. als Gattungstypus zuordnet und den Pilz in *Tryblidiella elevata* (Pers.) Rehm umbenennt. SHEAR (1933), der wie REHM die Meinung vertritt, daß dieser Pilz kein *Tryblidium* Rebent. ex Fries ist, als dessen Typus *Triblidium caliciforme* Rebent. ex Fries zu gelten hat, greift auf das älteste valide Epitheton zurück.

Somit ergibt sich aus den nomenklatorischen Erörterungen folgende Synonymie des Pilzes:

Tryblidiella hysterina (Duf.) Shear. — Mycologia 25, 4, 274, 1933.

Synonyme:

Triblidium hysterinum Duf. — Ann. Sci. Nat. Bot. 2, 13, 319—322, 1828).
Phacidium hysterinum Fries (non Pers. Myc. Eur. 1, T. 1, Fig. 4).
(Index zur Systema Mycologicum 1830)
Hysterium elevatum Pers. ex Duby (DE CANDOLLE Bot. Gall. 2, 179, 1830)
Hysterographium elevatum Desm. (Ann. Sc. Nat. 22. Not., 18, etwa 1830—1831)
Tryblidiella elevata Rehm (Ann. Mycol. 2, 6, 522—526, 1904)

Die Versuche zu dieser Arbeit wurden am Institut für Spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich durchgeführt, in dem mir Herr Professor Dr. E. GÄUMANN freundlicherweise einen Arbeitsplatz zur Verfügung stellte. Ihm und Herrn Dr. E. MÜLLER möchte ich für ihre liebenswürdige Unterstützung und Beratung meinen herzlichen Dank aussprechen.

Das Ausgangsmaterial der Untersuchungen stammte von *Buxus sempervirens* L., Fundort: Fontan, Alpes maritimes, Frankreich, leg. E. Müller, 26. 6. 1955. Der Pilz wurde am 26. 9. 1955 aus seinen Ascosporen isoliert und aus dieser Kultur am 19. 1. 1956 erneut auf Malzagar abgeimpft. Es konnten zwei Nebenfruchtformen beobachtet werden, eine davon nur in der älteren Kultur.

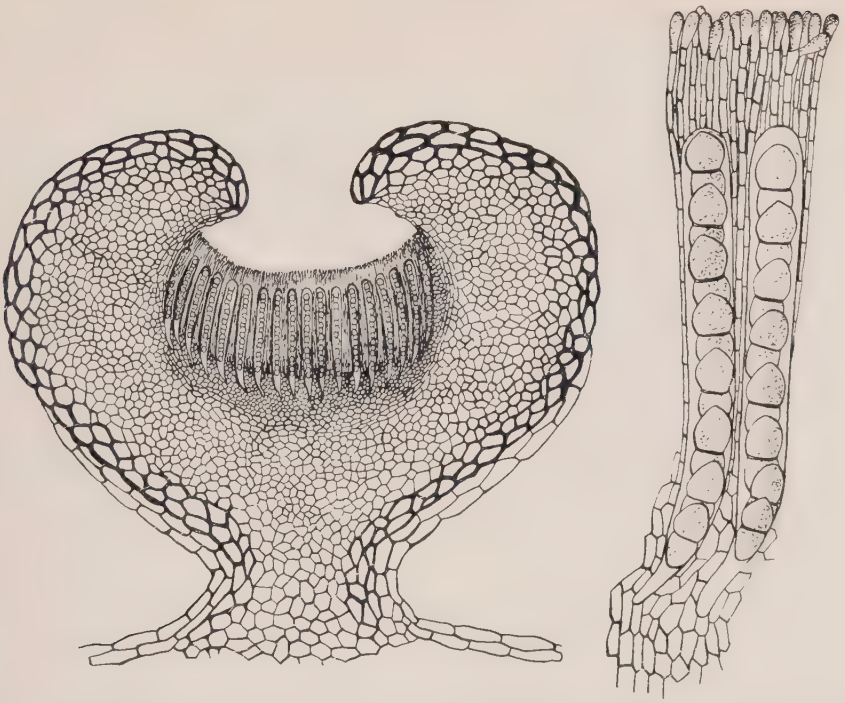


Abb. 1. *Tryblidiella hysterina.* Links: Querschnitt durch einen Fruchtkörper der Hauptfruchtform (Vergr. etwa 35×). Rechts: Partie aus dem Hymenium mit Asci, Sporen und Paraphysen. (Vergr. 250×)

Die Kultur vom 26. 9. 1955 enthielt nach ungefähr drei Monaten zwei verschiedene Arten von Fruchtkörpern:

1. Runde Fruchtkörper von etwa 270—340 μ Größe, welche auf einem lockeren Hyphengeflecht sitzen und von einer Hyphenschicht bedeckt sind, die sie bei der Reife durchbrechen. Ein Ostiolum mit einer heller gefärbten Mündung ist deutlich zu erkennen. Es ist zu einem kurzen Hals ausgezogen, der dem reifen Fruchtkörper ein kugelig-kegelförmiges Aussehen verleiht.

   Die Außenwand des Fruchtkörpers besteht aus schwarzbraunen, ziemlich groben Zellen, denen eine Schicht kleinerer, farbloser Zellen folgt. Bei der reifen Pyknide ist das Innere vollkommen von hyalinen, rundlichen Sporen ausgefüllt, die einen Durchmesser von 3—4 μ haben. Sie werden von kurzen Sporenträgern in das Innere des Fruchtkörpers abgeschnürt, sind einzellig und enthalten je einen Öltropfen.

Es scheint sich bei ihnen um den gleichen Mikropyknosporentyp zu handeln, wie er von Shear (1933) und von Voorhees (1939) beschrieben wird.

Bei dem Versuch, eine Bestimmung dieser Nebenfruchtform durchzuführen, ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung mit der Beschreibung Allescheers für *Phyllosticta limbalis* Pers. sec. Wallr., die wohl auf Blättern

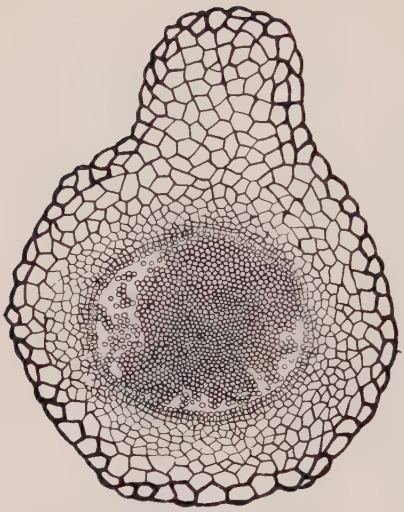


Abb. 2. *Tryblidiella hysterina.* Schnitt durch ein Pyknidium der Mikrokonidienform. (Vergr. etwa 150×)

von *Buxus sempervirens* L. vorkommt, aber von v. ARX (1949) mit einer *Mycosphaerella limbalis* identifiziert wurde. Als weitere, bedingt in Frage kommende Form wäre noch *Phoma deliticens* (Wallr.) Sacc. anzuführen, deren Beschreibung allerdings nicht zu einer klaren Bestimmung ausreicht und deren Originalmaterial kaum mehr vorhanden ist.

2. Als weitere Nebenfruchtform traten, sowohl in der Kultur vom 26. 9. 1955 wie auch in der vom 19. 1. 1956, Makropyknosporen auf.

Bereits zehn Tage nach Ansetzen der Kultur konnte die Bildung von Fruchtkörpern beobachtet werden. Sie sitzen mit einem kleinen Stroma einer ziemlich locker gefügten Hyphenschicht auf, die den ganzen Fruchtkörper umhüllt. Der unreife Fruchtkörper wird von einer dunkelgefärbten, sehr dicht gelagerten Hyphenschicht bedeckt, auf die wieder ein lockeres, weißliches Hyphengeflecht folgt.

Der Fruchtkörper selbst besteht aus drei Zellschichten: der schwarzbraunen, grobzelligen Außenschicht, an die sich nach innen zu eine ebenfalls noch ziemlich grobzellige, farblose Schicht anschließt, die bei der Reife eine helle rötlichbraune Färbung annimmt. Auf sie folgt die feinzellige, farblose Innenschicht, die beim reifen Fruchtkörper aus etwa zwei bis drei Zellagen besteht, deren äußerste die Funktion von Sporenträgern zu übernehmen scheint. In unreifem Zustande ist das ganze Zellinnere von einer feinen Zellmasse ausgefüllt, die bei der Reife verschwunden ist. Beim halbreifen Fruchtkörper erkennt man noch deutlich die Zellstruktur des Inneren, wobei sich schon vereinzelt Sporen zwischen diesen Zellen ansammeln. Mit fortschreitender Reife nimmt die Zahl der Sporen zu, bis schließlich der ganze Innenraum dicht mit braunen Sporen angefüllt ist.

Wahrscheinlich muß man sich den Vorgang der Sporenbildung etwa auf die Weise vorstellen, wie sie einerseits von BAUKE (1876), andererseits von v. TAVEL (1886) beschrieben wurde, also entweder durch Zerfall einer im Inneren des Fruchtkörpers befindlichen Zelle in eine Anzahl mehr oder weniger radial angeordnete Tochterzellen, die später die Sporen bilden oder selbst zu den ersten Sterigmen werden können, oder aber durch Ausbildung einer Schicht von Sporenträgern an der Innenwand des Fruchtkörpers, wobei die äußeren Zellen schneller und stärker wachsen als die innen gelegenen.

Die inneren Zellen weichen auseinander und bilden einen Hohlraum, in den dann die Sporen abgegeben werden.

Die Fruchtkörper sind — ausgereift — oval, ohne eine besonders markierte Mündung. Sie erscheinen häufig etwas flachgedrückt und sind gelegentlich zu zweien verwachsen. Ihre Größe schwankt zwischen 500 μ und 800 μ. Doppelte Fruchtkörper erreichen Ausmaße bis zu 1250 μ.

Die jungen Sporen sind farblos bis gelbbraun. An der Ansatzstelle zunächst abgeflacht, nehmen sie nach der Trennung von ihren Bildungszellen eine beidendig abgerundete Form an. Anfangs sind sie einzellig und enthalten zwei größere Öltropfen, zwischen denen sich später eine Querwand bildet. Die unausgereiften Sporen sind größer als die reifen. Sie sind etwa 43 μ lang und 15 μ breit. In reifem Zustand sind die Sporen dunkelbraun, länglich-oval, manchmal leicht gebogen (bohnenförmig) zweizellig, mit derbem Exospor. Die Öltropfen sind nur noch schwach zu erkennen, sie können als zwei große oder als zahlreiche kleine Tropfen beobachtet werden. Die reifen Sporen waren meist 39 μ lang, selten kürzer (bis 31 μ) und 12 μ breit (gelegentlich bis 15 μ). Die Quersepte verläuft genau in der Mitte der Spore, ohne sie einzuschnüren.

Zweifelsohne gehört diese Nebenfruchtform dem *Diplodia*-Typ an. Sie ließ sich jedoch nicht näher bestimmen; sie entsprach keiner der bisher für *Buxus sempervirens* L. beschriebenen *Diplodia*-Formen. Eine Übereinstimmung mit *Diplodia alni* Fuck., die Shear (1933) bei dem von ihm in Kulturen von *Tryblidiella hysterina* (Duf.) Shear gefundenen *Diplodia*-Typ zu beobachten glaubte, ließ sich nicht bestätigen. Voorhees (1939) beschreibt ebenfalls das Vorkommen von *Diplodia*-Sporen in seinen Kulturen, ohne aber eine Bestimmung zu versuchen.

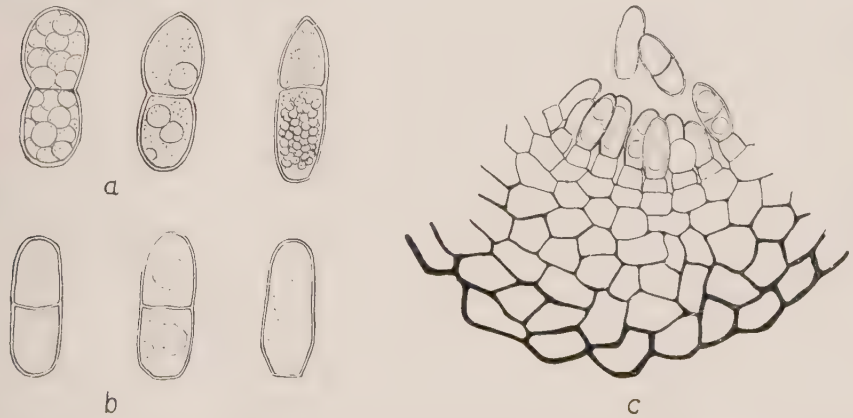


Abb. 3. *Tryblidiella hysterina.* a) Ascosporen, links zwei in reifem Zustand, rechts eine unreife Spore; b) Makrokonidien (Vergr. je 500×); c) Wandpartie aus einem Pyknidium der Makrokonidienform. (Vergr. 250×)

Die Hauptfruchtform trat in den Malzagarkulturen nicht auf. Sie konnte nur am Ausgangsmaterial, auf trockenen Zweigen von *Buxus sempervirens* L. beobachtet werden.

Die Fruchtkörper sind tiefschwarz, länglich (bis 2 mm lang und etwa 0,5 mm breit) und öffnen sich mit einem Längsspalt. Auch bei ihnen sind drei Zellschichten vorhanden: die dunkle Außenschicht, eine feinzelligere, farblose, ziemlich breite zweite Schicht und eine das Innere des Fruchtkörpers auskleidende Schicht aus kleinen, langgestreckten Zellen.

Die Asci liegen zwischen Paraphysen, von denen sie überragt werden. Sie sind zylindrisch-keulig, mit einem Fuß in die ascogene Zellschicht eingesenkt, an der Spitze abgerundet. Ihre Länge schwankt zwischen 270 μ und 310 μ, die Breite betrug bei allen gemessenen Asci einheitlich 23 μ. Jeder Ascus enthielt acht Ascosporen.

Die Ascosporen sind in unreifem Zustande farblos, sonst dunkelbraun. Sie besitzen eine kräftig ausgebildete Membran. In ihrer Form länglich-oval, sind sie an den Enden stumpf oder mitunter auch leicht zugespitzt und in der Mitte durch eine Quersepte deutlich eingeschnürt. Jede der dadurch entstandenen beiden Zellen enthält entweder einen großen oder auch mehrere kleine Öltropfen. Die Länge der Sporen mißt ungefähr 43 μ, ihre Breite liegt zwischen 15 μ und 19 μ.

Die Paraphysen sind septiert, bis 350 μ lang und zwischen 3 μ und 4 μ breit, an den Enden keulig verbreitert und gelegentlich verzweigt. Sie bilden ein rotbräunliches Epithecium.

Zusammenfassung

Der Ascomycet *Tryblidiella hysterina* (Duf.) Shear bildet in Reinkultur auf Malzagar zwei Arten von Nebenfruchtformen: eine Makrokonidienform vom *Diplodia*-Typ und eine Mikrokonidienform mit einzelligen, hyalinen, kugeligen Sporen. Keine dieser Nebenfruchtformen ließ sich mit einem beschriebenen imperfekten Pilz identifizieren.

Literaturverzeichnis

Allescher, A., 1901: in Rabenhorst Kryptogamenflora 1, 6, 14, 24, Leipzig.

von Arx, J. A., 1949: Sydowia **3**, 28—100.

Bauke, H., 1876: Beiträge zur Kenntnis der Pykniden I. Nova Acta d. Ksl. Leopold-Carol. Deutsch. Akademie d. Naturforscher **38**, 5, 445—512.

Desmazières, J. B. H. J., etwa 1830—1831: Annales Sciences naturelles, 22 Not., 18 (zit. nach Saccardo: Sylloge Fungorum **2**, 740, 1883).

Duby, J. E., 1830: De Candolle Botanicon Gallicum **2**, 719, Paris.

Dufour, J. M. L., 1828: Notice sur deux cryptogames peu connues et nouvelles pour la flore française. Annales des Sciences naturelles **13**, 319—322.

Fries, E., 1830: Systema mycologicum **3**, Greifswald, Index.

Persoon, H., 1822: Mycologia Europaea 1, Tab. 1, Fig. 4, Göttingen.

Rehm, H., 1904: Revision der Gattungen *Tryblidiella* Sacc., *Rhydithysterium* Speg., *Tryblidaria* Sacc., *Tryblidium* Rebent., *Tryblidiopsis* Karst. Annales Mycologici **2**, 522—526.

Saccardo, P. A., 1883: Sylloge Fungorum **2**, 740.

Shear, C. L., 1933: Life histories of *Tryblidiella* Species. Mycologia **25**, 4, 274—285.

von Tavel, Fr., 1886: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Pyrenomyceten. Dissertation.

Voorhees, R. K., 1939: The validity and morphology of two *Tryblidiella* species. Mycologia **31**, 113—123.

Über die Beziehung zwischen Viruskonzentration von Impflösungen und Infektionshäufigkeit

II. Das übereinstimmende Verhalten verschiedener Virusarten[1])

Von

E. Köhler[2])

Mit 6 Abbildungen

Auf Grund der von uns früher (E. Köhler u. D. Köhler, 1956) gewonnenen Erkenntnis, daß die Infektiositätsverdünnungskurve beim Tabakmosaikvirus (TMV) einer Normalverteilung entspricht (also nicht nach Poisson verläuft), haben wir noch weitere aus der Literatur bekannte Versuchsdaten, darunter auch von anderen Virusarten, in ähnlicher Weise geprüft, wie wir das für die von Kleczkowski (1950) mitgeteilten bereits ausführten. Im folgenden sollen nur einige charakteristische Beispiele aus der großen Materialfülle herausgegriffen werden.

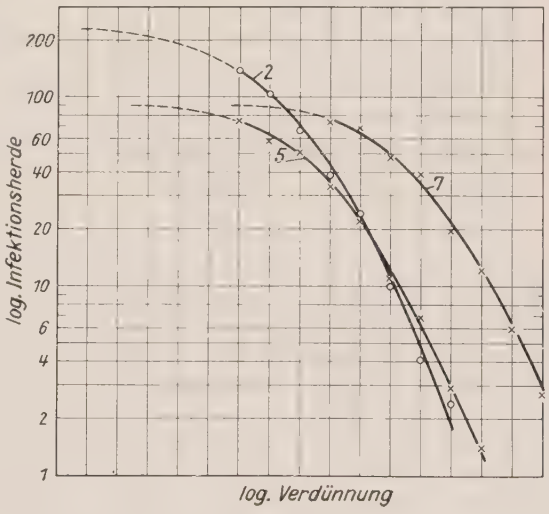


Abb. 1

Zunächst sei an den Ergebnissen der Versuche Nr. 5 und 7 von Bald (1937, I) erläutert, welches Darstellungsverfahren wir nachstehend anwandten. Zur Ermittlung des höchstmöglichen Infektionswertes „N" werden in einem Koordinatensystem auf der Ordinate die gefundenen Einzelherdzahlen (Läsionszahlen) und auf der Abszisse die Verdünnungen, beides in logarithmischer

[1]) Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

[2]) Anschrift des Verfassers: Dr. E. Köhler, Braunschweig, Messeweg 11/12

Progression, aufgetragen. Man erhält dann für die beiden genannten Versuche die aus Abbildung 1 ersichtlichen Kurven „5“ und „7“. Durch Extrapolation gelangt man zum Wert N; er liegt bei beiden Versuchen etwa bei 90. Zur Umzeichnung in das Wahrscheinlichkeitsnetz (dessen Ordinatenachse nach dem Gaußschen Integral geteilt ist) werden die Prozentzahlen errechnet, wobei der Wert N = 100 gesetzt wird. Wie man sieht (Abb. 2), liegen die Prozentwerte bei beiden Versuchen auf einer Geraden. Zum Vergleich kann man die dazugehörigen S-Kurven zeichnen, wozu man auf der Ordinate die Prozente außerdem in linearer Abmessung einträgt. Trotz des stark unterschiedlichen Konzentrationsniveaus ist der Linienverlauf für beide Versuche nahezu identisch; die Neigungswinkel der beiden Geraden sind nahezu gleich (50 und 53 °). Im vorliegenden Falle handelt es sich um gereinigte, gepufferte Viruslösungen, und zwar bei Versuch Nr.

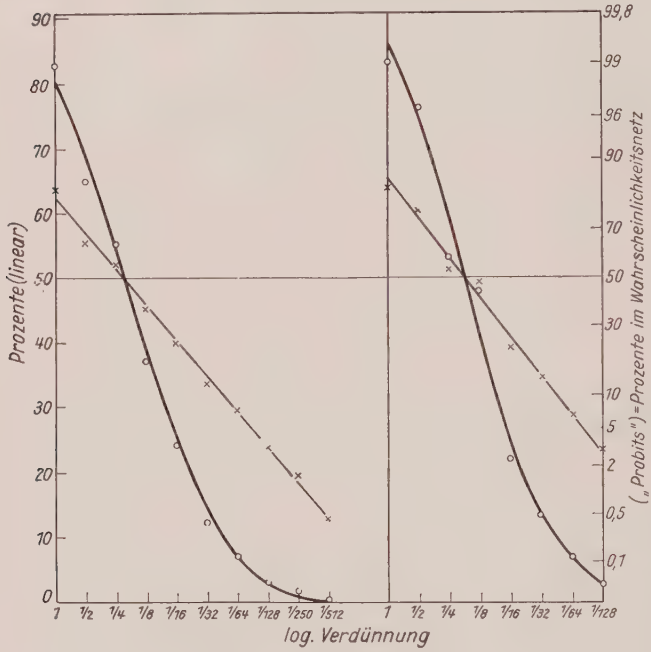


Abb. 2. Links Vers. 5, rechts Vers. 7; BALD 1937, I.

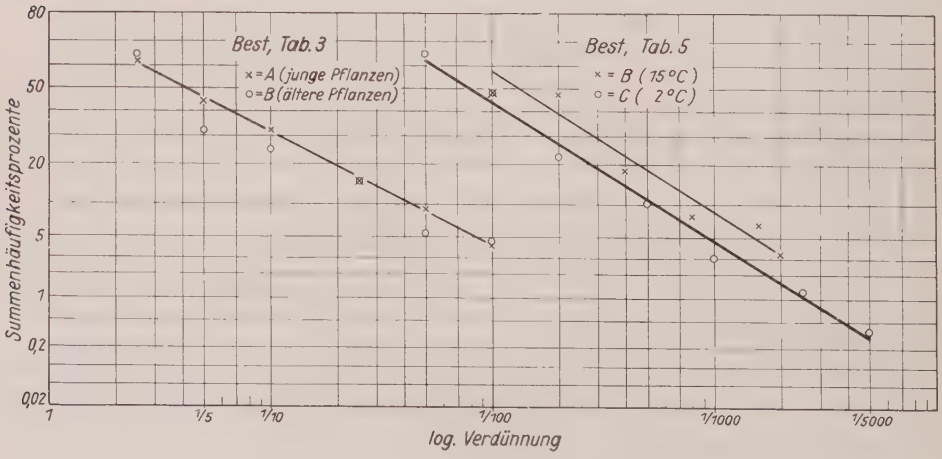


Abb. 3

5 um das mit dem TMV verwandte Tomaten-Aucubavirus, bei Versuch Nr. 7 um das gewöhnliche TMV. Testpflanze war *Nicotiana glutinosa.*

Für Versuch Nr. 1 aus derselben Arbeit (gereinigtes Kartoffel-X-Virus, Testpflanze *N. glutinosa*) ermittelten wir N = 64, Neigungswinkel = 52 °; für Versuch Nr. 2 (dasselbe Virus, Testpflanze *White Burley*-Tabak) entsprechend N = 230 (Abb. 1, „2") und Neigungswinkel = 50 °.

Aus der inhaltsreichen Arbeit von Best (1937) seien ein paar spezielle Versuche herausgegriffen. In einem Versuch mit TMV (l. c. Tab. 3 A und B) wurde ein und dieselbe Verdünnungsreihe auf Pflanzen (*N. glutinosa*) verschiedenen Alters verimpft. Die jungen, vor sechs Wochen gekeimten Pflanzen erwiesen sich weit anfälliger als die älteren, vor acht Wochen gekeimten. Die mutmaßlichen Werte für N lagen für A (junge Pflanzen) bei 900, für B (ältere Pflanzen) bei 100. Im Wahrscheinlichkeitsnetz liegen die Werte für A fast mathematisch genau auf einer Geraden (Abb. 3, links). Von den B-Werten fallen drei mit den entsprechenden A-Werten zusammen, die übrigen liegen nur wenig darunter. Der Unterschied dürfte kaum signifikant sein.

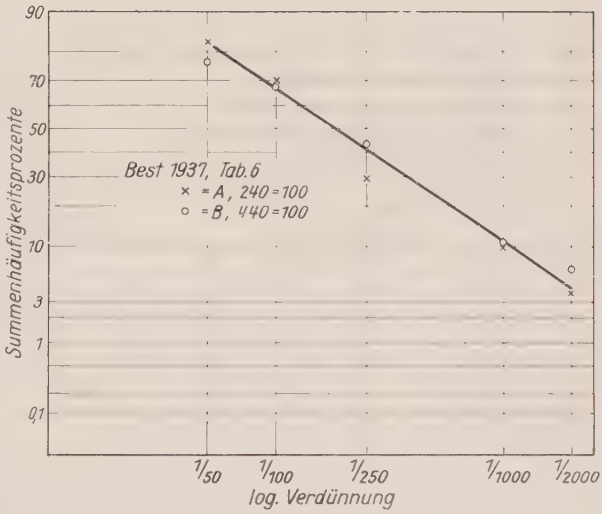


Abb. 4

In einem Versuch mit dem Spotted wilt-Virus der Tomate (Best, l. c. Tab. 6) wurden die mit ein und derselben Verdünnungsreihe beimpften *N. glutinosa*-Pflanzen nach der Impfung verschieden behandelt. Die A-Pflanzen kamen 15 Minuten nach der Impfung in das Gewächshaus, die B-Pflanzen blieben nach der Impfung zunächst drei Tage im Laboratorium und wurden erst dann ins Gewächshaus gestellt. Wir berücksichtigen nur die unkorrigierten Werte der dritten Zählung. Die B-Pflanzen erwiesen sich anfälliger als die A-Pflanzen. Setzt man bei A für N = 240 und bei B für N = 440, so schwanken die Werte beider Reihen im Wahrcheinlichkeitsnetz um eine Gerade (Abb. 4).

In einem weiteren Versuch mit dem Spotted wilt-Virus (Best, l. c. Tab. 5, B und C) wurde der Einfluß der Temperatur der Impflösung geprüft. Wir begnügen uns mit der Betrachtung der Infektionsreihen B (15 ° C). und C (2 ° C). Die Daten des Versuchs sind in folgender Tabelle wiedergegeben. Die Wahrscheinlichkeitsprozente haben wir dazu berechnet, wobei

wir bei Reihe B einen mutmaßlichen Höchstwert N von 600, bei C einen solchen von 800 einsetzten.

Verdünnung	B (N = 600)	%	C (N = 800)	%
1/50	—	—	530	66
1/100	288 (Mittelwert)	48	388	48
1/200	282	47	180	22,5
1/400	108	18	—	—
1/500	—	—	82	10,2
1/800	46	7,7	—	—
1/1000	—	—	25	3,1
1/1600	39	6,5	—	—
1/2000	20	3,3	—	—
1/2500	—	—	9	1,1
1/5000	—	—	2	0,25

Überträgt man die Prozentwerte in das Wahrscheinlichkeitsnetz (Abb. 3, rechts), so erhält man zwei annähernd parallele Gerade, und zwar die obere für die 15°-Werte, die untere für die 2°-Werte. Hieraus kann geschlossen werden, daß die Temperatur den Infektionserfolg nur wenig beeinflußte.

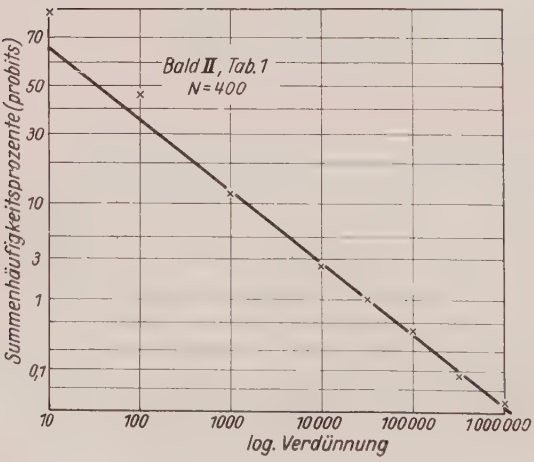


Abb. 5

Bei den Versuchen Nr. 1 (gewöhnliches TMV, N = 1200) und Nr. 4 (TMV-Gelbstamm, N = 500) wurde fast völlige Übereinstimmung angetroffen.

Auch das Ergebnis (BALD II, Tab. I) mit ungereinigtem Impfsaft des gewöhnlichen TMV (N = 400) entspricht von der Verdünnung 1 : 1000 ab aufs beste der Erwartung. In den höheren Konzentrationen tritt die durch die Bestandteile des Rohsaftes („impurities") verursachte, bereits von BALD festgestellte Abweichung zutage (Abb. 5).

Zum Schluß bringen wir noch die Transformation der von PRICE (1945) an gereinigten Säften ermittelten Daten über das Virus des Southern bean-

Mosaik, wobei wir uns auf seine Versuche Nr. 1, 2 und 3 beschränken. Als Höchstinfektionswerte N sind näherungsweise anzunehmen:

für Versuch 1 . . . . 18 000,
für Versuch 2 . . . . 20 000,
für Versuch 3 . . . . 10 000.

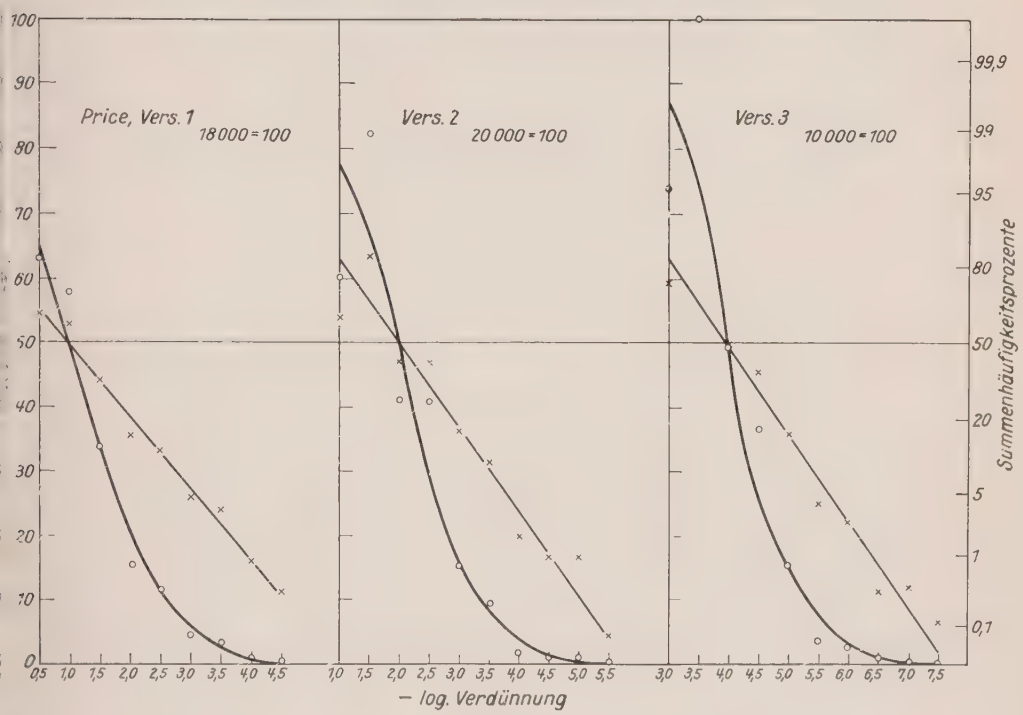


Abb. 6

Bei Übertragung ins Wahrscheinlichkeitsgesetz erhält man die nahezu identischen Bilder unserer Abbildung 6. Die Neigungswinkel betragen bei Versuch Nr. 1 51 °, Versuch Nr. 2 55 ° und Versuch Nr. 3 55 °. Die große Ähnlichkeit mit den Bildern nach BALD beim TMV (unsere Abb. 2) ist bemerkenswert.

Zusammenfassung

An Beispielen aus der Literatur wird nachgewiesen, daß die Infektiositätsverdünnungskurve bei verschiedenen Virusarten (Tabakmosaik, Tomaten-aucuba-Mosaik, Kartoffel-X-Mosaik, Tomaten-Spotted wilt, Southern bean mosaic) einer Normalverteilung (Zufallsgesetz) folgt. Die allgemeine Gültigkeit unserer (mit D. KÖHLER, 1956) aus Versuchen mit dem Tabakmosaikvirus abgeleiteten Schlüsse wird dadurch dargetan.

Literaturverzeichnis

Bald, J. G., 1937: The use of numbers of infections for comparing the concentrati plant virus suspensions. I. Dilution experiments with purified suspensions. appl. Biol. **24**, 33—55. II. Distortion of the dilution series. Ann. appl. Bio 57—76.

Best, R. J., 1937: The quantitative estimation of relative concentrations of the v of ordinary and yellow tobacco mosaics and of tomato spotted wilt b primary lesion method. Austral. J. exper. Biol. and med. Sci. **15**, 65—79.

Köhler, E. und Köhler, D., 1956: Über die Beziehung zwischen Viruskonzentratio Impflösungen und Infektionshäufigkeit. Biol. Zbl. **75**, 531—543.

Price, W. C., 1945: Accuracy of the local-lesion method for measuring virus activit Southern bean mosaic virus. Amer. J. Bot. **32**, 613—619.

Kurze Mitteilung

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben

Die Passage durch *Stellaria media* in ihrer Bedeutung für die mechanische Übertragung von Viren an Nelken

Von

KLAUS SCHMELZER

Mit einer Abbildung

Die mechanische Übertragung von Viren der Nelken auf Wirtspflanzen, die nicht zu den Caryophyllaceen gehören, ist schwierig, da die *Dianthus*-Arten Virushemmstoffe enthalten (VAN DER WANT 1951, WEINTRAUB und KILPATRICK 1952). Dementsprechend erzielten NOORDAM, THUNG und VAN DER WANT (1951) bei Abreibungen des Preßsaftes mosaikkranker *Dianthus barbatus* und *D. caryophyllus* (carnation mosaic virus) nur wenige Läsionen auf *Nicotiana tabacum* und *Callistephus chinensis*. KASSANIS (1955) erreichte überhaupt keine Infektionen mit dem Nelkenringflecken-Virus (carnation ring-spot virus) an Tabak oder Gartenbohnen, wenn er Nelkenpreßsaft verwendete. Zur Überwindung dieser Schwierigkeiten sind physikalische und chemische Methoden herangezogen worden. So ist die Abtrennung des Virus aus dem Nelkenpreßsaft durch hochtouriges Zentrifugieren oder durch Fällung mit Ammoniumsulfat möglich (KASSANIS 1955). In eigenen Versuchen erwies sich auch eine rein biologische Methode als brauchbar.

In Untersuchungen über den Wirtspflanzenkreis des Tabakmauche-Virus wurde *Stellaria media* (L.) Vill. als Wirt dieses Virus festgestellt (SCHMELZER 1955). Dabei fiel auf, daß Rückinfektionen an Samsuntabak mit dem Preßsaft dieser Caryophyllacee ohne Schwierigkeit gelangen und zahlreiche Läsionen entstanden. Es lag nahe, als Ursache dieser Erscheinung eine im Vergleich zu *Dianthus*-Arten geringere Hemmwirkung des Preßsaftes von *Stellaria media* zu vermuten. Wenn diese Annahme richtig ist und sich *Stellaria media* auch als Wirt des Nelkenringflecken-Virus erwiese, so müßte dieses Virus leicht auf nicht zu den Caryophyllaceen gehörige Wirte zu übertragen sein, wenn der Übergang von *Dianthus* auf *Stellaria* ebenfalls nicht wesentlich von Hemmstoffen beeinträchtigt wird.

Im Experiment konnten die obigen Überlegungen als richtig bestätig werden. Es gelang ohne Schwierigkeit, *Stellaria media* mit dem Nelkenring flecken-Virus[1]) bei Verwendung von Preßsaft aus *Dianthus barbatus* od *D. caryophyllus* zu infizieren. Möglicherweise wirkt das hemmende Prinzi der *Dianthus*-Arten bei allen Virusinfektionen an Caryophyllaceen nicht od in nur geringem Ausmaß. *Stellaria media* entwickelte als Folge der Infektio mit dem Nelkenringflecken-Virus ein dunkel- und hellgrünes Mosaik an d Spitzenblättern, die außerdem schwach verbeult waren, jedoch keine Nekr sen zeigten (Abb.).

Stellaria media infiziert mit dem Nelkenringflecken-Virus, rechts Kontrolle

Auf vier mit unverdünntem Preßsaft aus virusinfizierter *Stellaria* geriebenen Blättern von *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun) entstanden i gesamt 263, auf sechs Primärblättern von *Phaseolus vulgaris* (Sorte Pri 78 Läsionen. In zwei weiteren Versuchen wurde der Infektionserfolg Verwendung von unverdünnten Preßsäften nelkenringfleckenkranker *Di thus barbatus*, *D. caryophyllus* und *Stellaria media* vergleichend ermitt Es ergaben sich auf je zwölf Blättern des Samsuntabaks 3, 4 bzw. 277 Lä nen, auf je neun Blättern von *Phaseolus vulgaris* wurden durch die *Dianth* Arten keine, durch *Stellaria media* 123 Läsionen erzeugt.

Nach der an anderer Stelle veröffentlichten Methodik (SCHMELZER 1 wurden Hemmversuche mit den Preßsäften der drei Caryophyllaceen an schiedenen Kombinationen von Viren und Testpflanzen durchgeführt. die Tabelle 1 ausweist, bewirkten die *Dianthus*-Arten mehr als 99 % H mung, während *Stellaria media* wesentlich schwächere infektionsunterd kende Eigenschaften zeigte. In günstigen Fällen entstand etwa ein Dr der Läsionen der Kontrollabreibungen.

[1]) Für die Überlassung des Nelkenringflecken-Virus sei Herrn Dr. B. KA Rothamsted, bestens gedankt.

Tabelle 1

Vergleich der Hemmwirkung des Preßsaftes einiger Caryophyllaceen

Virus	Virus-konzentration	Testpflanze	Preßsaft-serie[a]	Durchschnittliche Anzahl der Lokalläsionen je Blatthälfte[b]					
				Stellaria media		*Dianthus barbatus*		*Dianthus caryophyllus*	
				Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle
Tabakmosaik-Grünstamm	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Nicotiana glutinosa*	G	5,8	46,5	0,1	56,2	0	36,8
Tabakmosaik-Grünstamm	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Nicotiana glutinosa*	F	22,4	63,9	0,1	33,9	0	49,6
Tabakmosaik-Grünstamm	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Nicotiana glutinosa*	F	29,6	112,9	0,1	52,5	0,1	68,6
Tabakmosaik-Gelbstamm	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Nicotiana glutinosa*	G	16,3	91,9	0,2	78,8	0	125,9
Tabakmosaik-Gelbstamm	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Nicotiana tabacum* Sorte Virgin Gold A	G	12,6	195c)	0	195c)	0,4	200c)
Kohlrübenmosaik (turnip mosaic)	$^1/_4 \times 0{,}33$	*Nicotiana tabacum* Sorte White Burley	F	5,1	27,5	0	8,8	0,1	11,2
Südliches Bohnenmosaik	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Phaseolus vulgaris* Sorte Ruhm v. Aschersleben	F	128,2	488,0	0	600c)	0,3	400c)
Südliches Bohnenmosaik	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Phaseolus vulgaris* Sorte Ruhm v. Aschersleben	G	2,1	28,0	0	38,3	0	28,6
Nelkenringflecken	$^1/_4 \times 0{,}1$	*Nicotiana tabacum* Sorte Virgin Gold A	F	34c)	100c)	0,1	90c)	0,1	80c)

a) Es wurden zwei Serien verwendet. Die Caryophyllaceen Preßsäfte der Serie G wurden aus Gewächshauspflanzen, die der Serie F aus Freilandpflanzen gewonnen. Der Anteil des Hemmstoffzusatzes betrug immer ein Viertel der gesamten Infektionslösung. In den Kontrollabreibungen wurde er durch die gleiche Menge Preßsaft aus gesunden, im Gewächshaus kultivierten *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun) ersetzt.

b) Berechnet aus jeweils 8 bis 15 Blatthälften.

c) Diese Werte wurden durch Schätzung gewonnen (beim Nelkenringflecken-Virus hatte ein Teil der Läsionen diffuse, zusammenlaufende Ränder).

Diese Befunde bestätigen die bei der Untersuchung der virushemmende Eigenschaften von *Cuscuta*-Arten gemachte Feststellung, daß sich systematisc eng zusammengehörige Pflanzenarten in ihrer Hemmwirkung deutlich unte scheiden können (SCHMELZER 1956). Es soll damit angeregt werden, au andere durch Hemmstoffgehalt gekennzeichnete Gruppen auf Vertreter z untersuchen, mit deren Hilfe bisher nur innerhalb dieser systematischen Ei heiten leicht zu übertragende Viren auf weitere, ferner stehende Pflanze arten mechanisch übergeimpft werden können.

Erst während des Druckes dieser Mitteilung ist mir die Arbeit von J. P. H. VAN D WANT (1953): „The in vitro separation of viruses from mixtures containing virus inhi tors from carnation plants", Atti congr. internaz. microbiol. Rom **3**, 394—398, bekar geworden, in der *Gomphrena globosa* zur Überbrückung eines Nelkenvirus von Ne auf Tabak und Gartenbohne vorgeschlagen wird.

Literaturverzeichnis

KASSANIS, B. (1955): Some properties of four viruses isolated from carnation plants. A appl. biol., **43**, 103—113.

NOORDAM, D., T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT (1951): Onderzoekingen o anjermozaiek I. T. plantenziekt., **57**, 1—15.

SCHMELZER, K. (1955): Zur Kenntnis des Wirtspflanzenkreises des Tabakmauche-Vi Naturwissenschaften, **42**, 564.

— — (1956): Beiträge zur Kenntnis der Virushemmstoffe in *Cuscuta*-Arten. Zbl. Bakter II, **109**, 482—515.

VAN DER WANT, J. P. H. (1951): Onderzoekingen over anjermozaiek II. T. plantenzi **57**, 72—74.

WEINTRAUB, M., and J. D. GILPATRICK (1952): An inhibitor in a new host of tobacco r spot virus. Canad. J. bot. **30**, 549—557.

Besprechungen

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur 1940—1945 (2 Teilbände, 1308 S.), **1950 und 1951** (je 1 Band, 438 u. 420 S.), bearbeitet von J. Bärner, herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem. Im Buchhandel zu beziehen durch den Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. Einzelpreise: 1940—1945: DM 97,—, 1950: DM 42,—, 1951: DM 38,—.

Es gehört zu den für die phytopathologische Wissenschaft und den praktischen Pflanzenschutz unvergänglichen Verdiensten von H. Morstatt, seit dem von ihm 1921 erstmalig herausgegebenen Band „Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur" (umfassend die Jahre 1914—1919) die bis 1939 erschienene phytopathologische Weltliteratur in solchen Bibliographien nahezu lückenlos erfaßt zu haben. In 21 stattlichen Bänden war damit ein vom Beginn des ersten Weltkrieges (1914) bis zum Ausbruch des zweiten Weltkrieges (1939) bibliographisches Kontinuum geschaffen, das seinen fachwissenschaftlichen hohen Wert tausendfältig unter Beweis gestellt hat. Dem berechtigten fachlichen Bedürfnis folgend hat die Biologische Bundesanstalt seit Wiederbeginn einer gewissen wirtschaftlichen und wissenschaftlichen Stabilisierung der Verhältnisse in Mitteleuropa die von Morstatt begründete bibliographische Tradition der früheren Biologischen Reichsanstalt erneut aufgegriffen. Unter ihren tatkräftigen beiden Nachkriegspräsidenten G. Gassner und H. Richter konnten die erforderlichen Mittel bereitgestellt und die umfassenden Vorbereitungen zur Fortsetzung dieser Bibliographie getroffen werden. Die fachgerechte Betreuung einer solchen mühevollen bibliographischen Arbeit befindet sich seit der Pensionierung von H. Morstatt in den bewährten Händen von J. Bärner. In zwei starken Bänden liegt nunmehr die phytopathologische Weltliteratur für die Jahre 1940—1945 bibliographisch erfaßt vor; zwei weitere unlängst erschienene Bände enthalten die Literaturquellen für die Jahre 1950 und 1951. Die Jahrgänge 1946—1949 sind weitgehend vorbereitet und sollen in Kürze erscheinen, so daß dann der Fachwelt ein kontinuierliches Werk vorliegt, das über die phytopathologische Weltliteratur 1914—1951 Auskunft gibt. Nicht nur die für eine bibliographische Arbeit vorbildliche Gründlichkeit und wohldurchdachte Systematisierung bei der Erfassung bzw. Zusammenstellung alles einschlägigen Schrifttums ist hier als ein bedeutsames Faktum zu vermerken, sondern der Wert dieser bibliographischen Leistung liegt nicht minder in der für das deutsche wissenschaftliche Schrifttum (leider) nur sehr selten festzustellenden Kontinuität der Erscheinungsweise. Die noch fehlenden Bände für die Jahre ab 1952 sind in Vorbereitung; sie werden zweifellos diese umfassende literarische Auskunftsquelle bis zum heutigen Status vervollständigen.

Hinsichtlich der systematischen Stoffaufgliederung wurde von Bärner in den neu vorliegenden Bänden die bereits in den früheren Jahrgängen von Morstatt gewählte Einteilung beibehalten. Auch darin ist also erfreulicherweise das Kontinuum gewahrt. Lediglich zur Bewältigung der für die sechs Kriegsjahre (1940—1945) nur in zwei Bänden zusammenzudrängenden umfangreichen Weltliteratur wurde aus Übersichtsgründen — gegenüber den früheren Jahresbibliographien — eine detailliertere Aufteilung der pilzlichen Parasiten und Insektenschädlinge vorgenommen sowie aus praktischen Erwägungen heraus für die Krankheitserreger die lateinischen Bezeichnungen aufgeführt und danach die systematische Ordnung gewählt. Aus denselben Gründen wird die gleiche Untergliederung auch für die Bände ab 1950 aufrechterhalten. Im ganzen blieb die bewährte Stoffgliederung

in die vier großen Kapitel der früheren Jahrgänge beibehalten: I. Allgemeiner Te (Sammelwerke, Lehrbücher, Kongreßberichte usw.), II. Krankheiten und Ursachen (nicht parasitäre, pflanzliche, tierische und Viruskrankheiten bzw. -ursachen), III. Krankheite und Wirtspflanzen (nach letzteren geordnet; der umfangreichste Teil) und IV. Maßnahme des Pflanzenschutzes. Dieser Index ist sämtlichen Bänden gleichzeitig in englischer un französischer Sprache vorausgeschickt, was heute zwecks internationaler Benutzungsmög lichkeit dieser Bibliographie durchaus geboten erscheint.

Zum Inhalt der neu erschienenen Bände im einzelnen vermag der Rezensent hie aus naheliegenden Gründen nicht Stellung zu nehmen; denn jede literarische Auskunft quelle größeren Umfangs stellt ihren Nutzungswert einschließlich ihrer Vollständigke erst im vielseitigen täglichen Gebrauch unter Beweis. Es dürfte aber kein Zweifel dara bestehen, daß die neu erschienenen vier Bände dieser Bibliographienserie, gleich ihre bewährten Vorgängern, ein echtes wissenschaftliches Bedürfnis auf dem phytopathologische Fachgebiet und demjenigen des Pflanzenschutzes nicht nur in Deutschland, sondern au im Ausland befriedigen werden. Darüber hinaus ist auch den Vertretern mancher Nac bardisziplin die Möglichkeit geboten, „über den fachlichen Zaun" zu blicken und si Literaturquellen in wohlgeordneter Form zu erschließen, die ihnen sonst leicht verborg bleiben können.

A. Scheibe, Göttingen

31. Deutsche Pflanzenschutztagung (Kassel, 10.—14. X. 1955), „Mitteilunge aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Heft 85, Berlin 1956. 204 S., 2 Taf., 46 Abb. Im Buchhandel zu beziehe durch den Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. Preis brosc DM 21,—.

Der Band enthält als Rechenschaftsbericht dieser Tagung eine stolze Bilanz mit in gesamt 37 wissenschaftlichen Referaten aus dem Gesamtgebiet des Pflanzenschutzes. E geleitet wird er mit dem Vortragsinhalt von G. Schrader, Wuppertal-Elberfeld, dem Beginn der Tagung für seine bahnbrechenden Forschungsarbeiten auf dem Gebiet Phosphorsäureester die „Otto-Appel-Denkmünze" verliehen worden war. Schlicht, a darum um so einprägsamer findet man hier von dem erfolgreichen Chemiker eine Ku darstellung über Werdegang und Synthese so mancher heute weltbekannter Insektizi Alle übrigen Referate sind, dem inneren Zusammenhang gemäß, unter sechs übergeo neten Themengruppen zusammengestellt, und zwar unter den Sachgebieten „Pflanz schutz und Biozönose" (zwölf Vorträge), „Pflanzenschutz in betriebswirtschaftlicher H sicht" (fünf Vorträge), „Hygienisch-toxikologische Pflanzenschutzprobleme" (vier Vorträ „Gartenbaulicher Pflanzenschutz" (fünf Vorträge), „Holzschutz" (vier Vorträge) „Unkrautbekämpfung" (sechs Vorträge). Es ist unmöglich, hier auf den Inhalt der z Teil viel Neues und Wissenswertes enthaltenden einzelnen Referate näher einzugehen. fachlich Interessierte mag aus der Angabe der Themengruppen als Anhaltspunkte nehmen, welche Probleme auf dieser Pflanzenschutztagung 1955 in Kassel aufgeworfen diskutiert wurden. Im übrigen wurde die Broschüre durch die Wiedergabe einer gro Zahl guter Abbildungen sowie durch einen sauberen Druck auf gutem Papier auch äußer sehr ansprechend ausgestattet.

A. Scheibe, Göttingen

Köhler, H., Einführung in die Methoden der pflanzlichen Antibiotikaf schung. Akademie-Verlag Berlin 1956. IX + 351 S., 39 Abb. P brosch. DM 20,—.

Obwohl antagonistische Beziehungen zwischen Mikroorganismen auf der Grund von Stoffwechselprodukten schon vor Jahrzehnten beobachtet worden sind, ist die deutung dieser biologischen Erscheinung im Hinblick auf seine Nutzbarmachung bei Bekämpfung von Infektionskrankheiten erst mit der Entdeckung des Penicillins erkannt worden. Während des vergangenen Jahrzehnts ist die Suche nach neuen A bioticis zu einem der aktuellsten Arbeitsgebiete der angewandten Biologie geworden,

in enger Zusammenarbeit von Mikrobiologie, Chemie und Medizin konnte eine ganze Reihe therapeutisch bedeutsamer antibiotischer Substanzen entdeckt werden. Forschung und Industrie sind an den Erfolgen in gleicher Weise beteiligt, denn erst die Entwicklung großtechnischer Produktionsverfahren konnte die Antibiotika zu den heute jedermann bekannten Heilmitteln machen.

Die Aktualität und die Bedeutung der Antibiotika spiegeln sich wider in einer Fülle von Veröffentlichungen, die heute auch von Fachleuten dieses Arbeitsgebietes meist nur auf dem sie speziell interessierenden Sektor übersehen werden. Insofern ist jede zusammenfassende Darstellung zu begrüßen. Die Autorin hat sich der sehr verdienstvollen Aufgabe unterzogen, die Methoden der Antibiotikaforschung geschlossen darzustellen. Ist jemand nicht mit diesen Dingen vertraut, dann kann er an Hand der Ausführungen eine Vorstellung von dem Weg gewinnen, der von der Erkennung und Isolierung eines Antibiotikum bildenden Organismus bis zur Gewinnung der wirksamen Substanz gegangen werden muß. Für den experimentell in der Antibiotikaforschung tätigen Wissenschaftler wird die „Einführung in die Methoden der pflanzlichen Antibiotikaforschung" nicht viel Neues bieten. Die sehr umfangreiche Literaturübersicht (774 Angaben) und die Zusammenstellung der bisher beschriebenen Antibiotika (Bakterien: 47; Actinomyceten: 91; Pilze, außer Basidiomyceten: 61; Basidiomyceten: 26, und höhere Pflanzen: 38) bilden jedoch für das Auffinden von Originalliteratur zum Zwecke eingehender Orientierung über spezielle Fragen eine wertvolle Hilfe.

Während der Rahmen der Darstellung bis auf einige überflüssige Wiederholungen in der Beschreibung der Testmethoden als gelungen angesehen werden kann, muß die nicht immer präzise Darstellung im einzelnen bemängelt werden. Abgesehen von einigen die deutsche Sprache vergewaltigenden Begriffen, wie die „Züchtung aktiver Substanzen" (S. 1), die „bakterielle Agar-Platte" (S. 12), „Konidialpassagen" (S. 26), „überzeugende Begleiterscheinungen eines Antibiotikums" (S. 76) u. a. m. findet man verschiedene unklare Vorstellungen. Bei einer besonderen Isolierungsmethode wird gesagt, „daß nur solche Organismen die (Anm. Ref.: in den Nährboden eingebrachten toten) Bakterien als Stickstoffquelle verwerten, die lytisch oder antagonistisch auf diese wirken" (S. 12). Dabei ist Antagonismus der übergeordnete Begriff und die Lysis lediglich ein spezieller Fall antagonistischen Verhaltens. Wenn man bei einer besonderen Methode „nicht mit einer Population, sondern mit einer reinen Kultur arbeitet" (S. 14), dann mag dazu bemerkt werden, daß auch eine „Reinkultur" von Bakterien im Sinne der Systematik nicht als „genetisch rein", sondern als Population betrachtet werden muß. Daß sich „Einzell-Kulturen nach einer geeigneten Bebrütungszeit ohne Gefahr einer Fremdinfektion gut abimpfen lassen" (S. 15), dürfte wohl nicht den Tatsachen entsprechen, denn die „Gefahr einer Fremdinfektion" ist unabhängig davon, ob Einzell-Kulturen oder andere abgeimpft werden, immer gegeben, wenn nicht durch eine geeignete Impftechnik Fremdinfektionen unmöglich gemacht werden. Überraschend ist auch folgende Darstellung (S. 21): „Die Feststellung von verunreinigenden Actinomyceten (Anm. Ref.: in Pilzkulturen) ist oft sehr schwierig, da Pilze oft ähnliche Duftstoffe ausscheiden." Die Beurteilung der Reinheit von Pilzkulturen nach auftretenden Duftstoffen dürfte wohl wenig zweckmäßig sein. Dafür stehen schließlich geeignete mikroskopische und kulturelle Methoden zur Verfügung! Abschließend zu diesen Bemerkungen sei noch erwähnt, daß die Begriffe „Resistenz" und „Immunität" nicht definitionsgemäß gebraucht werden (S. 203), daß die Vorstellungen über die Nachkommenschaft einer Einzell-Isolierung in bezug auf die Konstanz der physiologischen Eigenschaften der Einzelindividuen unklar sind (S. 16), und daß schließlich nicht einzusehen ist, warum Antibiotika, die nicht zur Zeit der stärksten Enzymtätigkeit in einer Kultur gebildet werden, sondern erst während des Autolysestadiums der Pilzhyphen, als „Anti-Enzyme" definiert werden sollen (S. 61). Auch läßt sich darüber streiten, ob es sinnvoll ist, die Bakteriocine (von denen das Colicin angeführt wird) bei ihren engen Beziehungen zu den Bakteriophagen zu den Antibioticis zu stellen. Alles in allem bedarf das Buch einer sorgfältigen Überarbeitung.

Den Phytopathologen mit einem speziellen Interesse an Fragen der Antibiotikatherapie bei Pflanzenkrankheiten wird das Buch insofern enttäuschen, als dieses Gebiet nur mit einigen wenigen Sätzen gestreift wird.

Stolp, Berlin-Dahlem

Schander, Helmut, Die Bodenmüdigkeit bei Obstgehölzen. Bonn-München-Wien, Bayerischer Landwirtschaftsverlag 1956. 66 S., 20 Abb., Preis kart. DM 2,80.

Bei der vorliegenden Schrift handelt es sich um den Abdruck einer Veröffentlichung in der Gartenbauwissenschaft (2 [20], 115—140 u. 233—260, 1955), der durch einen Nachtrag ergänzt wurde. Die ersten Abschnitte umfassen Versuche des Verfassers aus den Jahren 1950 bis 1954: Nachpflanzungen von Apfelbüschen und -stämmen auf apfelmüdem Boden, entsprechende Gefäßversuche mit Apfelsämlingen sowie Kernobstaussaaten, vor allem mit Apfel. Hierbei wurden die damals in Deutschland erörterten Fragen der Beseitigung der Bodenmüdigkeit durch eine Bor- oder Kupferschlackedüngung bzw. die Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff einbegriffen. Das im Ausland erfolgreich angewandte Bodenentseuchungsmittel DD (Dichlorropropan-Dichloropropen) wird auch in der Literaturbesprechung nicht erwähnt. Wie Verf. betont, brachten die Arbeiten im wesentlichen eine Bestätigung bereits bekannter Tatsachen. Verf. dehnte die Fragestellung 1954 noch auf das Nematodenproblem aus. Die Untersuchung der Wurzelballen von Apfelsämlingen auf ihren Älchenbesatz erfolgte durch das Zoologische Institut der Technischen Hochschule Braunschweig. Die Ergebnisse sind nach Verf. als gesichert anzusehen und schließen einen ursächlichen Zusammenhang mit der Bodenmüdigkeit aus. Angaben über Zeitpunkt der Probeentnahme und die Anzahl der untersuchten Pflanzen- bzw. Wurzelballen je Versuchsparzelle fehlen. Es folgt eine Besprechung des gesamten Problems an Hand der in- und ausländischen Literatur. Verf. kommt dabei zu dem Schluß, daß sich die meisten über die Bodenmüdigkeit bekannten Tatsachen ohne Schwierigkeit mit Hilfe der Toxintheorie erklären lassen. Die Organismentheorie lehnt er als falsch ab. Da unterdessen eine größere Anzahl grundlegender Veröffentlichungen erschienen waren, beschreibt Verf. in einem Nachtrag u. a. die Arbeiten aus den kanadischen Laboratorien von Harrow. Sie befassen sich mit der Bodenmüdigkeit bei Pfirsich. Auf Grund bereits vorliegender Erfahrungen im Citrusanbaugebiet Californiens war man sich über die komplexe Natur des Problems im klaren und ließ deswegen die Frage durch eine Arbeitsgemeinschaft von Spezialisten in Angriff nehmen. Nach den Ergebnissen dürfte es sich bei der Pfirsichmüdigkeit primär um die Einwirkung von Mikroorganismen handeln. Durch die Schädigung der Zellen der Wurzelrinde, in denen reichlich Amygdalin abgelagert ist, erfolgt eine ungehemmte Aufspaltung dieses Glukosids. Durch die Einwirkung von Emulsin bildet sich bekanntlich außer Glukose und der im Boden rasch flüchtigen Blausäure auch Benzaldehyd, der dann sekundär toxisch auf das Wachstum bzw. die Atmung der Wurzeln einwirkt. Das Büchlein, das ein ausführliches Literaturverzeichnis sowie Autoren- und Stichwortregister enthält, ist besonders wegen seiner ausführlichen Literaturbesprechung bis 1956 all denen zu empfehlen, die sich über das angeschnittene Thema und den Wechsel in den Anschauungen über die Ursachen der Bodenmüdigkeit unterrichten wollen.

Hochapfel, Heidelberg

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von

PAUL SORAUER

In sechs einzeln käuflichen Bänden herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. O. APPEL †
Geh. Reg.-Rat, Präsident a. D. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Prof. Dr. Dr. h. c. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

Prof. Dr. H. RICHTER
Präsident der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

	Ganzleinen
I. Band: Die nichtparasitären Krankheiten	
1. Halbband: Allgemeine Pflanzenpathologie, Ernährungs-, Klima- und Temperaturschäden. 6. Auflage 1933. 592 S., 123 Abb.	DM 46,—
2. Halbband: Innere und äußere Faktoren als Krankheitsursachen. 6. Auflage 1934. 553 S., 147 Abb.	DM 44,—
II. Band: Die Virus- und bakteriellen Krankheiten	
6. Auflage in 2 Lieferungen	
1. Lieferung: Viruskrankheiten. 1954. 786 S., 326 Abb.	DM 150,—
2. Lieferung: Bakterielle Krankheiten. Bakteriosen einschließlich Streptomykosen. 1956. 575 S., 179 Abb.	DM 124,—
III. Band: Die pflanzlichen Parasiten, 2. Teil (Pilzkrankheiten)	
5. Auflage 1932. 948 S., 195 Abb.	DM 66,—
IV. Band: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 1. Teil	
5. Auflage in 2 Lieferungen	
1. Lieferung: Protozoa und Metazoa partim. 1949. 458 S., 210 Abb.	DM 44,—
2. Lieferung: Trichoptera und Lepidoptera. 1953. 526 S., 154 Abb.	DM 116,—
V. Band: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 2. Teil	
5. Auflage in 5 Lieferungen	
1. Lieferung: Diptera und Hymenoptera. 1953. 320 S., 89 Abb.	DM 80,—
2. Lieferung: Coleoptera. 1954. 608 S., 154 Abb.	DM 144,—
3. Lieferung: Heteroptera, Homoptera I. Teil, 1956, 408 S., 128 Abb.	DM 94,—
4. Lieferung: Homoptera II. Teil (*Aphidoidea, Coccoidea*), erscheint Frühjahr 1957	
5. Lieferung: Vertebrata, erscheint Sommer 1957	
VI. Band: Pflanzenschutz, Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten	
2. Auflage in 4 Lieferungen	
1. Lieferung: Die wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes und seine Aufgaben. 1952. 464 S., 3 Abb.	DM 78,—
2. Lieferung: Physikalische und chemische Bekämpfungsmaßnahmen	
3. Lieferung: Biologische Bekämpfungsmaßnahmen und technische Mittel des Pflanzenschutzes	
4. Lieferung: Vorbeugungsmaßnahmen, Gesetzgebung, Organisation und Literaturübersicht	
(2.—4. Lieferung in Vorbereitung)	

Die Lieferungen der Bände II, IV, V und VI sind einzeln käuflich. Besteller, die sich zur Abnahme aller Lieferungen eines dieser Bände verpflichten, erhalten auf die angegebenen Preise des betreffenden Bandes einen Nachlaß von 10 Prozent

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

PAREYS
LANDWIRTSCHAFTS-LEXIKON

7., völlig neubearbeitete Auflage

Unter Mitwirkung zahlreicher Mitarbeiter und in Gemeinschaft mit

Prof. Dr. E. KLAPP und Prof. Dr. F. HARING

herausgegeben von

Prof. Dr. L. W. RIES, Michelstadt

Zwei Bände mit zusammen 805 Seiten und 500 Abbildungen

Subskriptionspreis je Band: In Ganzleinen DM 44,— (bei Teilzahlung DM 48,40)

Ab 1. März endgültiger Ladenpreis: je Band DM 48,— (bei Teilzahlung DM 52,80)

Am 1. Februar erschien der Abschlußband!

Die Bände sind nicht einzeln käuflich. Der Bezug des bereits im Oktober 1956 erschienenen 1. Bandes verpflichtet zur Abnahme auch des 2. Bandes.

„Das Lexikon stellt dem Benutzer die Sachkenntnis von über 30 führenden Fachleuten zur Verfügung, die zum größten Teil maßgebend an der Erarbeitung der Fortschritte beteiligt gewesen sind, die Forschung und Praxis in den letzten Jahrzehnten erzielt haben ... Damit ist ein Nachschlagewerk geschaffen worden, das dem Praktiker in Betrieb, Schule, Beratung, Verwaltung und Organisation ebenso dient wie dem Forscher und dem akademischen Nachwuchs. Es ist unentbehrlich für alle, die in und mit der Landwirtschaft arbeiten."

Agrarbiliographie

„Wer in und mit der Landwirtschaft zu tun hat, kann auf ein Fachlexikon gar nicht verzichten. Wer findet sich z. B. heute noch zwischen den zahllosen Pflanzenschutzmitteln zurecht, die bei der Vielzahl von Krankheiten und Schädlingen zur Anwendung gelangen? Pareys Landwirtschaftslexikon gibt die gewünschten Auskünfte. Sie stehen plötzlich vor der Aufgabe, ein Differentialgetriebe zu erläutern. In Pareys Landwirtschaftslexikon wird es nicht nur erklärt, sondern auch abgebildet. Sie lesen in einer Zeitschrift einen Artikel über ‚Diallele Paarung' und können mit diesem Begriff nicht viel anfangen. Schlagen Sie in Pareys Landwirtschaftslexikon nach, und Sie finden auch auf diese Frage eine Antwort. ... An alles und alle hat man gedacht bei der Herausgabe dieses wertvollen, allwissenden Buches. Wer das Werk nicht besitzt, hat selbst den Schaden."

OLR Dobert in der Deutschen Landwirtschaftl. Presse

VERLAG PAUL PAREY / HAMBURG UND BERLIN

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).